

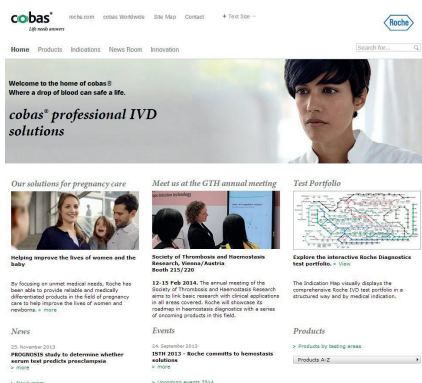


ISSN 1644-8448
nakład: 1000 egz.

LabForum



cobas[®]
Life needs answers



Szanowni Państwo,

Oddaję w Wasze ręce pierwsze tegoroczne wydanie LabForum. Pozwolę sobie tą drogą przekazać moje najserdeczniejsze pozdrowienia i życzenia wielu sukcesów w nowym, pełnym wyzwań roku.

Jest to początek już trzeciego roku mojej misji w Polsce. Jestem bardzo zadowolony z pobytu, w ostatnim roku nawiązałem wiele cennych kontaktów i liczę na dalsze otwarte rozmowy z Państwem w tym roku.

Dzięki doskonałej współpracy z Wami, naszymi cennymi klientami, w ostatnim roku osiągnęliśmy bardzo dobre wyniki i udało się nam wprowadzić wiele nowych produktów na polski rynek. W obszarze badań diagnostycznych dla laboratoriów centralnych były to, m.in. oznaczenia kalcytoniny do wykrywania niektórych rodzajów raka tarczycy i pro - GRP stosowany w diagnostyce raka płuc. W segmencie diagnostyki poziomego terapeutycznego leków immunosupresyjnych po przeszczepie powiększyliśmy istniejące portfolio o cyklosporynę i takrolimus. Równolegle powiększamy ofertę testów dla profilaktyki raka szyjki macicy. Oprócz istniejącego już testu na wykrycie wirusa HPV wysokiego ryzyka (z równoległym genotypowaniem podtypów 16 i 18), wprowadziliśmy na rynek test histologiczny CINtec Plus, który pozwala nam wstępnie wykrywać rakotwórcze etapy na nabłonku szyjki macicy.

Kolejnym ważnym wydarzeniem była przebudowa i ponowne uruchomienie strony internetowej **cobas**. Więcej można znaleźć pod linkiem <http://www.cobas.com>. W części dotyczącej produktu odnajdą Państwo setki informacji, uzyskacie szerszą wiedzę na temat konsolidacji badań (serum work area), automatyki i informatyki, analizy moczu, diagnostyki molekularnej. Poza tym proponuję zajrzeć do zakładki aktualności i sprawdzić, najważniejsze bieżące informacje. Zainspirujcie się Państwo również wizytą w części poświęconej Innowacjom, gdzie można zapoznać się z przyszłością opieki zdrowotnej z naszego punktu widzenia. Wierzę, że nowa, odświeżona strona internetowa [cobas.com](http://www.cobas.com) upewni Państwa, że Roche jest niezawodnym i stabilnym partnerem.

Życzę Państwu wszystkiego najlepszego, owocnego surfowania w internecie i polecam lekturę LabForum. W tym numerze artykuł o diagnostyce toksoplazmozy, nowych rozwiązaniach w monitorowaniu glikemii na oddziałach szpitalnych przy łóżku pacjenta i *serum indices*. Dodatkowo zwracam uwagę na najnowsze rekomendacje dotyczące witaminy D opracowane przez zespół ekspertów krajowych i opublikowane w ostatnim wydaniu periodyku STANDARDY MEDYCZNE/PEDIATRIA 2013, T.10 573-578.

Z poważaniem,

Tomáš Petr
wraz z zespołem RDP

Spis treści:

Europejskie wytyczne rozpoznawania pierwotnego zarażenia <i>Toxoplasma gondii</i>	3
Przydatność glukometrów POC do ścisłej kontroli glikemii	10
Wskaźniki surowicze SERUM INDICES/ w analizatorach cobas c i COBAS INTEGRA	12
Witamina D: wytyczne dla Europy środkowej 2013 r.	14

Europejskie wytyczne rozpoznawania pierwotnego zarażenia *Toxoplasma gondii*

Dr hab. n. med. Małgorzata Paul, Katedra i Klinika Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

CZYNNIKI RYZYKA ZARAŻENIA PIERWOTNIAKIEM *TOXOPLASMA GONDII* I DROGI INWAZJI

Toxoplasma gondii jest obligatoryjnym pierwotniakiem wewnątrzkomórkowym, występującym u człowieka oraz u wielu gatunków zwierząt stałocieplnych. Człowiek zaraża się pierwotniakiem *T. gondii* poprzez:

1. pożywienie (głównie niemyte warzywa i owoce), wodę i ręce zanieczyszczone oocystami obecnymi w wydalinach zarażonego kota,
2. spożycie surowego lub niedogotowanego mięsa zarażonych zwierząt, zawierającego cysty pierwotniaka (głównie wieprzowina i baranina),
3. przekazanie tachyzoitów od matki do płodu poprzez łożysko (zarażenie wertykalne),
4. przypadkowy kontakt z tachyzoitami poprzez transfuzje krwi i preparatów krwiopochodnych (zwłaszcza masy granulocytarnej), transplantacje narządów (szpiku kostnego, serca, nerek), zarażenie laboratoryjne u osób pracujących z żywym pierwotniakami (próby biologiczne na zwierzętach doświadczalnych, hodowle komórkowe).

U osób z przebytą w przeszłości, utajoną postacią toksoplazmozy i głęboką immunosupresją (liczba limfocytów CD4+ poniżej 100/μl) może wystąpić reaktywacja zarażenia na skutek rozpadu cyst tkankowych pasożyta i przekształcenia zawartych w nich, licznych, „uśpionych” bradyzoitów w aktywnie namnażające się w tkankach tachyzoity. U osób immunokompetentnych, zarażenie *T. gondii* przebiega zazwyczaj całkowicie bezobjawowo lub subklinicznie. Rozpoznanie toksoplazmozy jest wówczas stawiane przeważnie przypadkowo na podstawie wykazania obecności swoistych przeciwciał we krwi obwodowej w badaniach immunodiagnostycznych. Stąd też badania serologiczne odgrywają najistotniejszą rolę w diagnostyce tej inwazji pasożytniczej. Ciężki, pełnoobjawowy przebieg kliniczny toksoplazmozy obserwuje się wyłącznie u pacjentów ze znacznie osłabioną funkcją układu immunologicznego lub jego niedojrzałością u płodów i noworodków, zwłaszcza wcześniaków z niską urodzeniową masą ciała, a także u osób z wrodzonym lub nabytym upośledzeniem odporności.

ROZPRZESTRZENIENIE GEOGRAFICZNE ZARAŻENIA *T. GONDII* W POLSCE I NA ŚWIECIE

Zarażenie *T. gondii* jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych inwazji pasożytniczych i chorób odzwierzęcych na świecie. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia szacuje się, iż nabyte zarażenie *T. gondii* obejmuje około 1/3 ludności świata. Ryzyko zarażenia waha się jednak w dość szerokich granicach w zależności od charakteru strefy klimatycznej, wysokości nad poziomem morza, zwyczajów sanitarno-żywnieniowych i warunków socjoekonomicznych poszczególnych populacji. Częstość występowania dodatnich odczynów serologicznych z antygenem toksoplazmowym wzrasta wraz z wiekiem, świadcząc o przebytej wcześniej, najczęściej bezobjawowej inwazji. Kobiety w ciąży stanowią grupę szczególnego ryzyka zarażenia *T. gondii*, ze względu na potencjalną możliwość przekazania toksoplazm przez łożysko do płodu, stąd też jest ona najliczniej reprezentowana w badaniach seroepidemiologicznych. Odsetek seropozytywnych kobiet w wieku prokreacyjnym, a więc odpornych na pierwotne zarażenie w czasie ciąży w różnych regionach świata waha się w dość szerokich granicach od 3 do 81%. Doniesienia epidemiologiczne z różnych regionów kraju wskazują na dość wysoką częstość występowania zarażenia *T. gondii* w polskiej populacji, w porównaniu do mieszkańców

Toksoplazmoza jest szeroko rozpowszechnioną na świecie pasożytniczą chorobą odzwierzęcą, wywoływaną przez wewnątrzkomórkowego pierwotniaka *Toxoplasma gondii*. U człowieka jest ona przykładem inwazji oportunistycznej, przebiegającej zazwyczaj bezobjawowo lub skąpoobjawowo pod postacią łagodnych i mało charakterystycznych objawów ogólnych, które mają skłonność do samoistnego ustępowania bez powikłań i następstw klinicznych. Jednakże w przypadku znacznego osłabienia funkcji układu odpornościowego lub jego fizjologicznej niedojrzałości u płodów, noworodków i niemowląt, ta powszechnie występująca inwazja pasożytnicza może przybierać obraz bardzo ciężkiej, ogólnoustrojowej inwazji pasożytniczej o niekorzystnym rokowaniu klinicznym. Choroba stwarza istotne ryzyko groźnych powikłań ze strony ośrodkowego układu nerwowego i narządu wzroku dla potomstwa kobiet ciężarnych, które pozbawione swojej odporności przeciwtoksoplazmowej, zarażają się pierwotniakiem po raz pierwszy w czasie ciąży (tzw. zarażenie pierwotne).

innych krajów europejskich i różnią się one stosunkowo nieznacznie w poszczególnych województwach (od 36% do 58,9%).

Wiedza dotycząca profilu seropozytywności na danym obszarze geograficznym jest istotna dla prawidłowej interpretacji wyników badań immunodiagnostycznych. Wyższy odsetek seropozytywności w badanej populacji wiąże się bowiem z istotnym ryzykiem nadmiernego rozpoznawania pierwotnych inwazji *Toxoplasma* w czasie ciąży i jest on nierzadko źródłem trudności diagnostycznych. Z drugiej strony, na przestrzeni ostatnich lat, zaobserwowano znaczący spadek seropozytywności wśród kobiet w wieku rozrodczym, co proporcjonalnie wpływa na niepokojące zwiększenie odsetka pacjentek pozbawionych immunizacji w kierunku toksoplazmozy, czyli seronegatywnych i narażonych na pierwotną inwazję *T. gondii* w czasie kolejnej ciąży.

AKTUALNE ZASADY ROZPOZNAWANIA PIERWOTNEGO ZARAŻENIA *T. GONDII* U KOBIET CIĘŻARNYCH

Zarażenie *T. gondii* nabyte w okresie pourodzeniowym przez osoby z prawidłową czynnością układu immunologicznego przebiega przeważnie niezauważalnie. Również w czasie ciąży, objawy kliniczne choroby u kobiet obserwuje się sporadycznie, a jedynym pewnym wykładnikiem inwazji pasożytniczej jest serokonwersja w kierunku swoistych przeciwciał przeciwtoksoplazmowych we krwi obwodowej. Na świecie, częstość występowania pierwotnej toksoplazmozy podczas ciąży waha się od 0,1 do 1%. We Francji wykrywa się średnio 6,6 przypadków serokonwersji na 1.000 ciąż, co stanowi 14,8 przypadków na 1.000 podatnych na zarażenie, nie immunizowanych przed ciążą kobiet, przy wysokiej seroprevalencji w populacji wynoszącej 54%. Według danych Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie, serokonwersję w kierunku *T. gondii* potwierdzono tylko u 0,39% polskich kobiet nie posiadających przeciwciał przed ciążą. Częstość pierwotnych zarażeń okazała się istotnie większa u pacjentek pochodzących z terenów wiejskich (1,1%), niż u kobiet mieszkających w miastach o liczbie mieszkańców powyżej 10 tysięcy (0,27%). Tylko w nielicznych przypadkach, toksoplazmoza nabywana w czasie ciąży przebiega pod postacią łagodnej limfadenopatii, głównie z zajęciem węzłów szyjnych, karkowych i potylicznych, rzadziej uogólnionego powiększenia węzłów chłonnych. Czasami może jej towarzyszyć niewielka gorączka lub stany podgorączkowe, znacznego stopnia osłabienie, męczliwość, bóle głowy i mięśni.

Objawy kliniczne ostrej toksoplazmozy są zazwyczaj mało charakterystyczne i nie stanowią one podstaw do rozpoznania pierwotnego zarażenia *T. gondii* w czasie ciąży. Wg aktualnie obowiązującego, międzynarodowego systemu definicji i klasyfikacji toksoplazmozy u immunokompetentnych kobiet ciężarnych i ich potomstwa, opracowanego przez Europejską Sieć Naukową ds. Wrodzonej Toksoplazmozy, pierwotne zarażenie *T. gondii* u ciężarnych uznaje się za pewne wyłącznie na podstawie udokumentowania serokonwersji w zakresie swoistych przeciwciał IgG, przy badaniu dwóch, kolejnych próbek surowicy krwi pobranych podczas ciąży.

Pierwotne zarażenie *T. gondii* można uznać za wysoce prawdopodobne w przypadku:

1. stwierdzenia serokonwersji dla immunoglobuliny klasy G, gdy pierwsze z dwóch wymaganych badań przeprowadzane jest tuż przed ciążą,
2. wykazania znaczącego wzrostu stężenia immunoglobuliny klasy G (co najmniej 2-krotny wzrost) i równoczesnej obecności przeciwtoksoplazmowych przeciwciał IgM i/lub IgA,
3. wysokich wartości miana przeciwciał IgG przy obecności swoistych przeciwciał IgM

- i/lub IgA oraz pojawienia się limfadenopatii w czasie ciąży,
- wysokich stężeń przeciwciał IgG przy obecności IgM i/lub IgA w drugiej połowie ciąży bez objawów limfadenopatii,
 - wyhodowania toksoplazm z krwi obwodowej kobiety ciężarnej, fragmentów łożyska, próbek płynu owodniowego lub tkanek płodu albo dodatniego wyniku badania histopatologicznego tkanek płodu, a także
 - stwierdzenia obecności DNA lub antygenów pierwotniaka we krwi obwodowej, w łożysku, płynie owodniowym lub w tkankach płodu.

Z drugiej strony, wykrycie stabilnych, niskich stężeń przeciwtoksoplazmowych przeciwciał IgG przy współistnieniu lub braku swoistych immunoglobulin klasy M, albo też wykazanie wysokich wartości miana przeciwciał IgG przy nieobecności IgM, wyklucza możliwość pierwotnego zarażenia w czasie ciąży. W diagnostyce różnicowej ostrego i przewlekłego okresu toksoplazmozy nabytej, niezwykle przydatne okazało się oznaczanie awidności, czyli siły wiązania z antygenem swoistych przeciwciał IgG. Wysoka awidność przeciwtoksoplazmowych przeciwciał klasy G pozwala na jednoznaczne wykluczenie ostrej toksoplazmozy, nabytej w ciągu ostatnich 20 tygodni. Natomiast niska awidność swoistych przeciwciał IgG, chociaż jest ona zwykle charakterystyczna dla wczesnego okresu choroby, może nierzadko utrzymywać się również w przewlekłym okresie inwazji, stwarzając istotne trudności w określaniu czasu trwania zarażenia. Podobnie, dodatkowego wyjaśnienia wymaga fakt udokumentowanego, długotrwałego utrzymywania się przeciwtoksoplazmowych przeciwciał IgM we krwi obwodowej, które można często wykryć po okresie nie tylko kilku-kilkunastu miesięcy, ale nawet wielu lat od momentu udokumentowanej serokonwersji. Stąd też przeciwciała IgM dawno już utraciły swoją rolę wyznacznika ostrego okresu toksoplazmozy nabytej. Należy zwrócić szczególną uwagę na ten dość często powtarzany w rutynowej praktyce błąd diagnostyczny, w celu uniknięcia niewłaściwego, nadmiernego rozpoznawania ostrej toksoplazmozy w czasie ciąży i nieuzasadnionego leczenia przeciwtoksoplazmowego kobiet ciężarnych, obciążonego wysokim ryzykiem istotnych objawów ubocznych. Oznaczenie swoistych przeciwciał IgA we krwi obwodowej kobiet ciężarnych, podejrzanych o pierwotne zarażenie *T. gondii*, może służyć jako pomocnicze badanie uzupełniające, należy jednak pamiętać, iż dość rzadko pozwala ono na ostateczne rozstrzygnięcie rozpoznania, gdyż

Tabela 1. Przykłady określania czasu trwania nabytego zarażenia *T. gondii* na podstawie wyników badań immunodiagnostycznych.

IgG ELISA IU/ml	IgG IF IU/ml	Awidność IgG indeks	IgM ELISA indeks	IgM IF rozc.	Wniosek/ czas trwania zarażenia
2	8	-	2,46	1/80	1-2 tygodnie
1	0	-	0,97	0	przeciwciała „naturalne”
48	8	0,860	1,42	0	„przetrwałe” IgM
23	80	0,017	3,44	1/80	3 tygodnie
232	640	0,032	6,26	1/160	4-6 tygodni
247	1280	0,187	4,39	1/160	2 miesiące
726	1280	0,260	2,62	0	3-4 miesiące
479	80	0,650	1,14	0	zarażenie przewlekłe
326	8	0,832	0,55	0	zarażenie przewlekłe



cobas e 601

· system immunochemiczny przeznaczony dla średnich i dużych laboratoriów



cobas® 6000

· zintegrowany system biochemiczno-immunochemiczny



cobas e 411

· system immunochemiczny przeznaczony dla małych i średnich laboratoriów

swoiste IgA anty – *T. gondii* mogą się utrzymywać przez okres 7-9 miesięcy. W większości przypadków, przy zastosowaniu różnych technik serologicznych dla poszczególnych klas swoistych przeciwciał przeciwtoksoplazmowych i oznaczeniu awidności IgG, istnieje możliwość bardzo precyzyjnej oceny czasu trwania inwazji *T. gondii* (Tabela 1). Dlatego też, interpretację odczynu serologicznego u kobiet ciężarnych i decyzję o rozpoznaniu lub wykluczeniu aktywnego zarażenia powinno się powierzać wybranym ośrodkom referencyjnym, posiadającym duże doświadczenie praktyczne w zakresie diagnostyki i prowadzenia nadzoru klinicznego nad ciążą przebiegającą z ryzykiem urodzenia dziecka z toksoplazmozą wrodzoną.

WSPÓŁCZESNE ZASADY ROZPOZNAWANIA WRODZONEGO ZARAŻENIA *T. GONDII*

Toksoplazmoza wrodzona jest następstwem pierwotnego zarażenia *T. gondii*, nabytego przez matkę dziecka po raz pierwszy w czasie ciąży lub w okresie okołokoncepcyjnym (maksymalnie do 3 miesięcy przed zapłodnieniem). Jest to niezwykle ważna informacja, którą powinien wykorzystać diagnosta laboratoryjny podczas interpretacji wyników badań serologicznych i oceny ewentualnego ryzyka dla matki i płodu. Podkreślenia wymaga fakt, iż zarażenie *T. gondii* nie jest nigdy przyczyną poronień nawykowych, a toksoplazmoza wrodzona może wystąpić tylko podczas jednej z ciąż. W przypadku ciąży mnogiej, ryzyko zarażenia potomstwa i obraz kliniczny toksoplazmozy wrodzonej są prawie identyczne u bliźniąt jednokosmówkowych (jednołożyskowych), co podkreśla znaczącą rolę łożyska w patogenezie inwazji, natomiast różnią się one znacznie u płodów dwukosmówkowych, niezależnie czy są to płody jedno- czy dwuzygotyczne. Kobiety posiadającą już dziecko z toksoplazmozą wrodzoną należy zapewnić, iż w przeciwieństwie do innych, genetycznie uwarunkowanych zespołów chorobowych, błędów metabolicznych lub zaburzeń endokrynologicznych, podobna sytuacja w przyszłości już nigdy się nie powtórzy. Jest to istotna, praktyczna informacja pozwalająca na uniknięcie niepotrzebnego obciążenia stresem i nieuzasadnionego powtarzania badań serologicznych podczas każdej następnej ciąży, pozbawionej już przecież ryzyka urodzenia kolejnego dziecka z toksoplazmozą wrodzoną.

W przypadku udokumentowania pierwotnego zarażenia *T. gondii*, ryzyko przeniknięcia toksoplazm do płodu podczas całej ciąży wynosi u kobiet europejskich nie więcej niż 29% i wzrasta ono liniowo wraz z wiekiem ciążowym, osiągając 6% w 13 tygodniu ciąży, 40% w 26 tygodniu i aż 72% na 4 tygodnie przed porodem. U kobiet z przebyłą w przeszłości inwazją, znane są wyjątkowo rzadkie przypadki transmisji zarażenia na płód w stanach zmniejszonej odporności w wyniku leczenia immunosupresyjnego stosowanego w czasie ciąży (ziarnica złośliwa, toczeń układowy, niedokrwistość aplastyczna), wykonanej uprzednio splenektomii lub współistniejącego nabytego zespołu upośledzenia odporności. Wykazano, iż ryzyko reaktywacji przewlekłej toksoplazmozy i transmisji przezłożyskowej pierwotniaka u pacjentek zakażonych wirusem HIV nie jest wyższe od ryzyka pierwotnego zarażenia *T. gondii* w czasie ciąży u tych kobiet.

Częstość występowania wrodzonej toksoplazmozy na świecie waha się od 1 do 20 przypadków na 10.000 żywo urodzonych dzieci, natomiast liczba udokumentowanych niepowodzeń ciążowych z powodu toksoplazmozy wynosi nie więcej niż 2% wszystkich prenatalnych zarażeń wywołanych przez *T. gondii*. W dużym materiale Instytutu

Matki i Dziecka w Warszawie, zanotowano 3 przypadki wrodzonej toksoplazmozy na 2000 porodów. Na podstawie przeprowadzonych w Wielkopolsce, unikalnych badań immunodiagnostycznych 45.169 noworodków, częstość wrodzonego zarażenia *T. gondii* wynosiła 1 na 883 żywych urodzeń (1,13 na 1000), czyli 1 na 497 porodów przebiegających z ryzykiem urodzenia dziecka z toksoplazmozą wrodzoną (2,0 na 1000), w odniesieniu do liczby seronegatywnych przed ciążą kobiet, podatnych na pierwotne zarażenie *T. gondii* w czasie ciąży.

Klasyczna triada objawów klinicznych Sabina - Pinkertona (zapalenie siatkówkowo-naczyniówkowe, zwapnienia wewnątrzczaszkowe, poszerzenie układu komorowego) posiada znaczenie historyczne w rozpoznawaniu wewnątrzmacicznych inwazji *T. gondii*. Według wielośrodkowego opracowania Europejskiej Sieci Naukowej ds. Wrodzonej Toksoplazmozy, kryteria ostatecznego potwierdzenia wrodzonego zarażenia *T. gondii* u płodów, noworodków i niemowląt są następujące:

1. stwierdzenie obecności toksoplazm lub kwasów nukleinowych pasożyta w płynie owodniowym, we krwi obwodowej lub w tkankach płodu,
2. wyhodowanie toksoplazm z krwi pępowinowej lub tkanek noworodka i niemowlęcia w ciągu pierwszych 6 miesięcy życia,
3. wykazanie obecności toksoplazm w badaniu histopatologicznym tkanek płodu, noworodka lub niemowlęcia do 6 miesiąca życia,
4. utrzymywanie się dodatniego miana swoistych przeciwciał klasy IgG przez 12 miesięcy życia przy obecności lub nie triady objawów klinicznych oraz
5. wykazanie nie przechodzących przez łożysko, swoistych przeciwciał IgM i/lub IgA we krwi płodu lub we krwi obwodowej noworodka i niemowlęcia w ciągu pierwszych 6 miesięcy życia.

Należy tutaj zdecydowanie podkreślić, iż analiza swoistych przeciwciał IgG po ukończeniu przez dziecko 12 miesiąca życia jest rozstrzygającym badaniem weryfikującym, decydującym o ostatecznym rozpoznaniu, niezależnie od uzyskiwanych wcześniej wyników badań immunodiagnostycznych, czy molekularnych („złoty standard”). W ośrodkach referencyjnych, ostateczne potwierdzenie wrodzonego zarażenia *T. gondii* jest możliwe przed ukończeniem 1 roku życia, w oparciu o wykrycie noworodkowych przeciwciał klasy IgG i/lub IgM o innej swoistości antygenowej lub syntetyzowanych w wyższym stężeniu niż przeciwciała matki z zastosowaniem porównawczej analizy profilu immunologicznego referencyjną techniką immunoblottingu (Rycina 1).

Wykrywanie przeciwtoksoplazmowych przeciwciał IgA i/lub IgM we krwi pępowinowej pobranej przy porodzie, chociaż jest niewątpliwie badaniem najmniej inwazyjnym, wiąże się ze znacznym ryzykiem uzyskania wyników fałszywie dodatnich. Konieczne jest zwrócenie uwagi na fakt, iż w ciągu pierwszych dni po porodzie stężenie przeciwtoksoplazmowych przeciwciał IgG u każdego noworodka jest porównywalne z ich wartością u seropozytywnej matki. Dlatego też wysokie wartości IgG anty - *T. gondii* wykrywane u dziecka po urodzeniu nie są podstawą do rozpoznania wrodzonej toksoplazmozy. Podobnie w porodach operacyjnych oraz w przypadku patologii łożyska, niewielkie ilości przeciwciał IgM i/lub IgA, przedostających się z krążenia matczynego, mogą być obecne we krwi noworodka w pierwszym tygodniu życia, będąc źródłem niewłaściwego rozpoznania toksoplazmozy wrodzonej.



cobas e 601

· system immunochemiczny przeznaczony dla średnich i dużych laboratoriów



cobas® 6000

· zintegrowany system biochemiczno-immunochemiczny

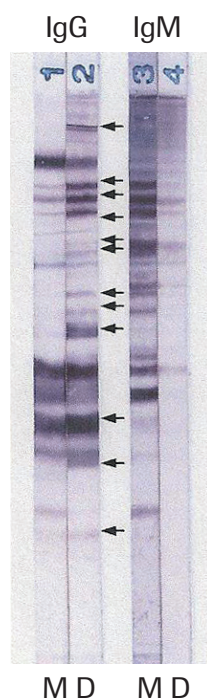


cobas e 411

· system immunochemiczny przeznaczony dla małych i średnich laboratoriów

1 Analiza porównawcza

profilu immunologicznego swoistych przeciwciał IgM i IgG we krwi obwodowej matki (M) i dziecka (D) zarażonych *T. gondii* przy zastosowaniu referencyjnej techniki immunoblotingu (IgM–IgG Western blot). Strzałki wskazują na obecność we krwi obwodowej noworodka licznych prążków przeciwciał IgG o innej swoistości antygenowej lub syntetyzowanych w wyższym stężeniu niż immunoglobuliny matki, będących jednoznacznym wykładnikiem wrodzonego zarażenia *T. gondii*.



W okresie prenatalnym, rozpoznawanie wrodzonego zarażenia *T. gondii* opiera się na metodach bezpośredniej identyfikacji pierwotniaka (hodowle komórkowe in vitro, próba biologiczna na zwierzętach doświadczalnych), poszukiwaniu fragmentów jego kwasów nukleinowych lub swoistych antygenów w płynie owodniowym, uzyskanym drogą amniopunkcji (pobranie płynu przez powłoki brzuszne pod kontrolą USG). Badanie w kierunku obecności DNA pasożyta w płynie owodniowym techniką polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR) uznawane jest aktualnie za metodę referencyjną we wczesnej diagnostyce toksoplazmozy wrodzonej u płodu. Należy jednak pamiętać, iż szanse wykrycia DNA *T. gondii* zależą od wieku ciążowego, w którym doszło do zarażenia matki oraz płodu w odniesieniu do okresu, w którym wykonywana jest amniopunkcja, a także od rodzaju i długości stosowanego leczenia przeciwpasożytniczego. W badaniach wieloośrodkowych, skupiających wiodące w Europie ośrodki parazytologiczne wykazano, że czułość wykrywania DNA *T. gondii* w próbkach płynu owodniowego dla techniki PCR wynosiła średnio nie więcej niż 72% dla całej ciąży, wahając się od 25% dla zarażeń dokonanych w I trymestrze do 75% w III trymestrze ciąży. Stąd też decyzja o terminie wykonania amniopunkcji przy podejrzeniu toksoplazmozy wrodzonej powinna dokładnie uwzględniać czas wystąpienia serokonwersji u matki dziecka. Skojarzenie techniki PCR z izolacją toksoplazm metodą hodowli komórkowej lub inokulacji dootrzewnowej myszy pozwoliło na zwiększenie czułości diagnostycznej badania płynu owodniowego odpowiednio do 93 i 91%. Ujemny wynik pojedynczego badania płynu owodniowego nie jest w żadnym wypadku podstawą do wykluczenia wrodzonej toksoplazmozy i zaprzestania prewencyjnego podawania antybiotyku makrolidowego (rowamycyna, azytromycyna) aż do dnia porodu, ani też regularnych badań serologicznych przeprowadzanych u noworodka i niemowlęcia w pierwszym roku życia. Wykluczenie wrodzonego zarażenia jest w takich przypadkach

możliwe dopiero w okresie pourodzeniowym, na podstawie uzyskania dwóch kolejnych, całkowicie ujemnych wyników badań immunodiagnostycznych na obecność przeciwciał IgG, wykonanych w odstępie 2 miesięcy.

W diagnostyce prenatalnej przypadków podejrzanych o wrodzone zarażenie *T. gondii*, nie zaleca się już obecnie wykonywania kordocentezy (pobranie krwi z żyły pępowinowej pod kontrolą ultrasonograficzną), ze względu na niezadowalającą czułość diagnostyczną technik badawczych wykrywających krótkotrwałą parazytemię we krwi obwodowej płodu; miejsce kordocentezy wyparła niemal całkowicie amniopunkcja w kierunku poszukiwania kwasów nukleinowych pasożyta metodą PCR. W ostatnich latach wprowadzono do diagnostyki wrodzonego zarażenia *T. gondii* metodę immunoenzymatycznego wykrywania krążących antygenów pasożyta w płynie owodniowym. Technika ta, z zastosowaniem próbek płynu pobranych nie tylko drogą amniocentezy, ale też w sposób całkowicie nieinwazyjny podczas porodu, została z powodzeniem zastosowana w Ośrodku Poznańskim w uzasadnionych przypadkach podejrzanych o serokonwersję w czasie ciąży, jako metoda konkurencyjna w stosunku do wykrywania fragmentów DNA pasożyta.



cobas e 601
· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
średnich i dużych
laboratoriów

*Piśmiennictwo dostępne
w redakcji*

Tabela 2. Przykłady właściwej interpretacji wyników badań immunodiagnostycznych w kierunku toksoplazmozy u kobiet ciężarnych

Badanie serologiczne wykonane po raz 1	IgM indeks	IgG (IU/ml)	Kontrolne badanie serologiczne	IgM indeks	IgG (IU/ml)	Wniosek
Przykład I						
w 14 tygodniu ciąży:	1,14	1	w 17 tygodniu ciąży	1,20	0	Obecność heterofilnych przeciwciał IgM. Nie stwierdza się wykładników immunologicznych zarażenia <i>T. gondii</i> . Wskazane przestrzeganie zaleceń sanitarno-żywnościowych dotyczących toksoplazmozy oraz wykonywanie serologicznych badań przesiewowych co najmniej jednorazowo w każdym z trymestrów ciąży.
Przykład II						
w 6 tygodniu ciąży	1,26	871				Zarażenie <i>T. gondii</i> przebyte przed ciążą. Nie stwierdza się ryzyka wrodzonej toksoplazmozy.
Przykład III						
w 10 tygodniu ciąży	0,98	15	w 14 tygodniu ciąży	4,26	279	Ostre zarażenie <i>T. gondii</i> nabyte w I trymestrze ciąży. Wskazane chemioprophylaktyczne podawanie antybiotyku makrolidowego przez cały czas trwania ciąży, regularna kontrola ultrasonograficzna płodu oraz badania serologiczne w kierunku toksoplazmozy u noworodka.
Przykład IV						
w 26 tygodniu ciąży	5,39	128	w 30 tygodniu ciąży	4,61	358	Ostre zarażenie <i>T. gondii</i> nabyte w II trymestrze ciąży. Zalecane pilne podanie antybiotyku makrolidowego oraz badanie płynu owodniowego w kierunku obecności DNA <i>T. gondii</i> . Wskazania do rozważenia intensywnego leczenia matczyno-płodowego preparatami pierwotniakobójczymi.

Przydatność glukometrów POC do ścisłej kontroli glikemii

Na podstawie artykułu K. Gijzen i wsp. opublikowanego w CCLM 2012; 50 (11): 1985-2012



Accu-Chek Inform II
· kompaktowy aparat do monitorowania glikemii przy łóżku chorego

Ścisła kontrola glikemii wymaga częstych oznaczeń glukozy. W praktyce oddziałów intensywnej opieki medycznej laboratoryjne oznaczenia glukozy często są nieprzydatne do prowadzenia pacjentów w reżimie ścisłej kontroli glikemii z powodu zbyt długiego czasu oczekiwania na wynik. W tej sytuacji metodą z wyboru dla pacjentów w stanach krytycznych jest oznaczanie glukozy w miejscu opieki przy użyciu glukometrów. Należy podkreślić, że glukometry przewidziane do samokontroli (SMBG) nie są tożsame z glukometrami przeznaczonymi do użytku szpitalnego w miejscu opieki (POC; *point-of-care*). Niemniej jedno i drugie mogą mieć podobne ograniczenia. Często wskazywanymi wadami glukometrów jest ich niska dokładność oraz podatność na interferencje – wpływ hematokrytu i nawodnienia pacjenta, lipemii lub interferencje związane z podawanymi lekami.

Badania oceny przydatności glukometrów POC do prowadzenia ścisłej kontroli glikemii u ciężko chorych pacjentów oddziału intensywnej terapii wykonano w Meander Medical Center, Holandia. W ciągu 11 miesięcy oznaczono stężenie glukozy w 390 próbkach heparynizowanej krwi pobranych z linii tętniczych 80 pacjentów wymagających ścisłej kontroli glikemii. W ramach badania każdy pacjent miał wykonanych od 3 do 6 oznaczeń glukozy. Założono, że glikemia tych pacjentów powinna być utrzymywana w zakresie od 6,1 do 7,5 mmol/l (110-135 mg/dl). Analizy wykonywano równolegle przy użyciu jednego glukometru przeznaczonego do samokontroli (Menarini GlucoCard Memory PC) i czterech glukometrów przeznaczonych do użytku szpitalnego (Roche Accu-check Inform II System, HemoCue Glu201DM, Nova StarStrip i Abbot Precision Xceed Pro). Wszystkie oznaczenia były wykonywane w laboratorium przez przeszkolonych techników, nie później niż 30 min. od pobrania krwi. W celu uniknięcia potencjalnego błędu systematycznego, za każdym razem zmieniano kolejność glukometrów, na których wykonywano oznaczenia. Wyniki oznaczeń uzyskanych przy użyciu glukometrów odnoszono do pomiarów wykonywanych metodą z oksydazą glukozy w osoczu krwi z tego samego pobrania przy użyciu analizatora laboratoryjnego DxC-800 (Beckman Coulter) (Tabela). Drugą badaną grupą było 15 noworodków monitorowanych z powodu podejrzenia hipoglikemii. U dzieci pobierano jedynie 200 mikrolitrów krwi włośniczkowej. Oznaczenia wykonywano tylko na glukometrach POC i odnoszono je do oznaczeń wykonywanych na laboratoryjnym glukometrze Biosen Glucometer C_line Clinic (EKF Diagnostics).

Wyniki ze wszystkich aparatów wykazywały wysokie współczynniki korelacji z oznaczeniami glukozy wykonanymi na DxC-800 (Tabela). Jednak glukometry Menarini GlucoCard Memory PC i Nova StatStrip wykazywały tendencję do zaniżania wyników. W zakresie niższych stężeń – u noworodków – oznaczenia wykonywane na wszystkich glukometrach POC były zbliżone do wyników otrzymywanych przy użyciu glukometru Biosen. Uzyskane dane analizowano względem błędu dopuszczalnego dla oznaczeń glukometrycznych wg wytycznych:

1. ISO 15197, które przy stężeniach glukozy równych i poniżej 4,2 mmol/L dopuszczają błąd nie przekraczający 0,83 mmol/LI, natomiast przy stężeniach glukozy powyżej 4,2 mmol/L, błąd pomiaru nie powinien przekraczać 20%,
2. Holenderskiej Organizacji ds. Stosowanych Badań Naukowych (TNO, guideline PT/TG/2001.045) według których przy stężeniach glukozy poniżej 6,5 mmol/L, błąd pomiaru

nie powinien być większy niż 1 mmol/L a przy stężeniach glukozy powyżej 6,5 mmol/L, błąd pomiaru nie powinien przekroczyć 15%,

3. Narodowej Akademii Biochemii Klinicznej/Aмерыkańskiego Towarzystwa Diabetologicznego (NACB/ADA), które dla stężenia glukozy poniżej 5,6 mmol/L dopuszczają błąd pomiaru nie większy niż 0,8 mmol/L, a przy stężeniach powyżej 5,6 mmol/L, nie powinien przekroczyć 15%.

Glukometr przeznaczony do samokontroli (Menarini Gluco-Card memory PC) przekroczył wszystkie ww. kryteria. Natomiast spośród czterech analizowanych glukometrów POC jedynie oznaczenia wykonywane przy użyciu Accu-Check Inform II System firmy Roche spełniały kryteria wszystkich przedstawionych powyżej wytycznych.

Analiza statystyczna nie wykazała znaczącego wpływu potencjalnych czynników interferujących (endogennych jak hematokryt, stężenie sodu, potasu, kwasu moczowego, mocznika, albuminy, białka całkowitego, triglicerydów i bilirubiny oraz czynników egzogennych takich jak: paracetamol, dopamina czy mannitol) na wyniki oznaczeń glukozy przy użyciu analizowanych glukometrów POC, przy czym nie stwierdzono w próbkach znaczącej hemolizy, lipemii czy bilirubinemii, a także patologicznie wysokich lub niskich wartości hematokrytu.

Tabela. Wyniki pomiarów glukozy u 80 pacjentów ze ścisłą kontrolą glikemii oraz u 15 noworodków. % ISO, TNO i NACB/ADA obrazuje odsetek wyników spełniających kryteria tych wytycznych

	Glukometry POC				Glukometr do samo-kontroli	Odniesienie
	Abbot	HemoCue	Nova	Roche	Menarini	DxC-800
Liczba próbek	379	391	391	389	391	390
Średnie stężenie glukozy [mmol/L]	8,2 ± 2,1	8,3 ± 2,0	7,3 ± 1,9	8,3 ± 2,1	6,9 ± 2,1	8,1 ± 2,0
Zakres [mmol/L]	3,7-17,6	3,8-19,1	3,3-15,0	3,1-17,7	2,7-16,2	3,6-17,1
Korelacja Pearsona	0,940	0,929	0,964	0,964	0,936	
% ISO	96,6	95,1	91,0	99,5	63,3	
% TNO	94,2	91,0	81,8	96,1	47,7	
% NACB/ADA	93,4	89,2	77,9	95,6	45,4	
Próbki noworodkowe z niskimi stężeniami glukozy (n=15)						Biosen
Średnie stężenie glukozy [mmol/L]	3,4 ± 1,2	3,4 ± 1,3	2,8 ± 1,0	2,8 ± 1,2		3,0 ± 1,0
Zakres [mmol/L]	3,4-1,2	1,4-6,8	1,2-4,8	1,3-6,2		1,6-5,7
Korelacja Pearsona	0,965	0,951	0,939	0,959		
% ISO	93	93	100	100		
% TNO	93	86	100	100		
% NACB/ADA	87	86	93	100		

Komentarz: Jak wynika z meta-analizy Wienera i wsp. (JAMA, 2008;300:933-944), ścisła kontrola glikemii nie na wpływu na umieralność pacjentów oddziałów intensywnej opieki medycznej, natomiast wiąże się z większym ryzykiem hipoglikemii. Wykonana w opisywanej powyżej pracy ocena dokładności glukometrów w zakresie niskich stężeń glukozy na stosunkowo niedużej liczbie próbek od pacjentów podejrzewanych o hipoglikemię nie jest (jak sami autorzy zauważają) miarodajna. Stosowane obecnie kryteria błędu dopuszczalnego glukometrów są dość liberalne właśnie w zakresie niskich stężeń glukozy (ISO 15197 dla 99% pomiarów przy stężeniach glukozy poniżej 4,2 mmol/L, błąd nie powinien być większy niż 0,83 mmol/L, w przypadku wytycznych TNO, błąd dopuszczalny przy niskich stężeniach glukozy jest jeszcze większy – 1 mmol/L). Jest to potencjalnie duży błąd (liczony procentowo rośnie wraz ze zmniejszaniem się oznaczanego stężenia glukozy), który nie ułatwia rozpoznawania i prowadzenia hipoglikemii przy użyciu glukometrów. Ponadto, wspomniana norma ISO 15197 dotyczy glukometrów przeznaczonych do samokontroli pacjentów z cukrzycą, w przypadku urządzeń przeznaczonych do użytku szpitalnego należy oczekiwać większej dokładności. Wydaje się, że dla glukometrów POC, celem powinny być nieco zapomniane rekomendacje ADA, według których należy dążyć do tego, aby błąd oznaczeń przy użyciu glukometrów nie przekraczał 10% w zakresie od 1,6 do 22,2 mmol/L (1987) a nawet 5% (1996).

Wskaźniki surowicze **SERUM INDICES** w analizatorach cobas c i COBAS INTEGRA

Testy wykonywane w laboratoriach mogą być obarczone błędami z powodów zawartości różnych substancji endo- i egzogennych w próbkach badanych. Zautomatyzowana, obiektywna ocena występowania substancji interferujących pozwala na zwiększenie efektywności w procesie wykonywania badań w laboratorium w porównaniu z subiektywną, wizualną interpretacją.

Zadaniem laboratorium jest dostarczanie prawdziwych wartości dla wyników badań w oparciu o pomiar stężenia lub aktywności.

Niestety, wynik oznaczenia często obarczony jest wpływem substancji wpływających na pomiar. Przyczyną wpływającą na zafałszowany pomiar kolorymetryczny lub turbidymetryczny może być znaczne stężenie hemoglobiny, bilirubiny lub lipemii (triglicerydów) w oznaczanej próbce.

Przyczyną podwyższenia stężenia hemoglobiny, bilirubiny oraz triglicerydów mogą być różne procesy chorobowe, ale także w przypadku oznaczania triglicerydów zbyt krótka karencja pokarmowa (standardowo 12 godzin). Nie bez znaczenia jest właściwe postępowanie w fazie przedanalizycznej oraz umiejętne pobieranie materiału w celu uniknięcia np. hemolizy.

Hemoliza w surowicy krwi widoczna nieuzbrojonym okiem występuje przy stężeniu wolnej hemoglobiny przekraczającym 300 mg/L (18,8 mmol/L)¹.

Żółtaczka jest stanem, gdy stężenie bilirubiny w surowicy krwi przekroczy 2 mg/dl.

Lipemia jest definiowana jako zmętnienie próbki widoczne nieuzbrojonym okiem. Zwykle występuje przy stężeniu triglicerydów przekraczającym 300 mg/dL (>3,4 mmol/L), zależy ona także od wielkości cząstek lipidowych występujących w próbce¹.

W przypadku istniejących wątpliwości czy dana próbka nadaje się do dalszych analiz można skorzystać z narzędzia jakim są wskaźniki (indeksy) surowicze - *Serum Indices*.

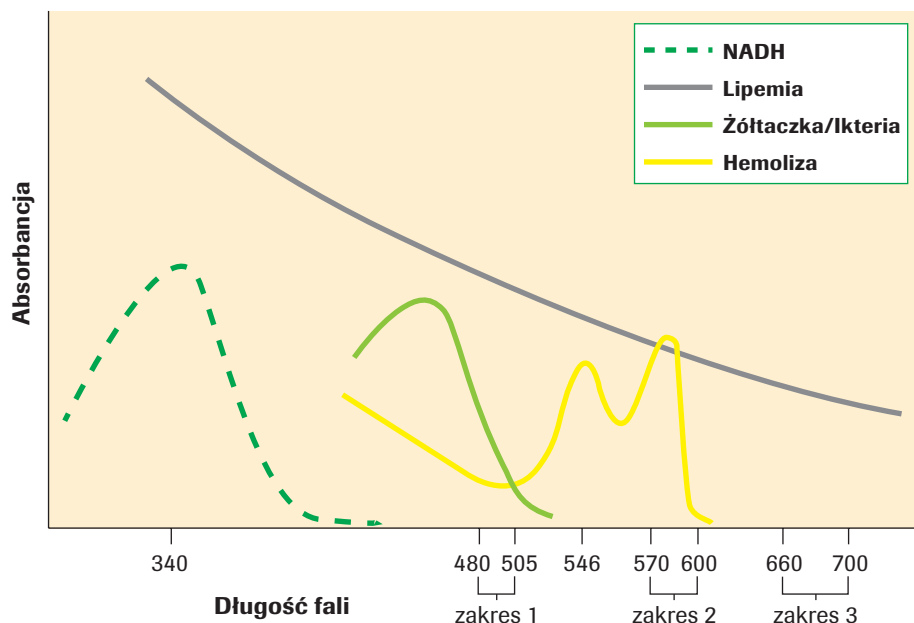
Serum Indices (SI) służą do ilościowej oceny czynników wpływających na ostateczny wynik analizy. Dzięki instalacji funkcji *Serum Indices* w analizatorach z rodziny Roche/Hitachi cobas c oraz COBAS INTEGRA można ocenić hemolizę (H), żółtaczkę (I) oraz lipemię (L) poprzez pomiar absorbancji z wykorzystaniem próbki badanej oraz 9% roztworu NaCl na analizatorach Roche/Hitachi **cobas c** i na analizatorach COBAS INTEGRA. Do wyliczania indeksów hemolizy H, żółtaczki I oraz lipemii L służą odpowiednie wzory. Oznaczenia wskaźników surowiczych mogą być wykonane w jednostkach konwencjonalnych lub SI. Dla zautomatyzowania tego procesu, 9% roztwór NaCl używany jest w postaci kasety Serum Index Gen. 2, SI2 stojącej na pokładzie analizatorów.

POMIAR SI

Surowica lub osocze jest rozcieńczane 0,9% NaCl (automatyczne przygotowanie), a następnie dokonywany jest pomiar absorbancji w układzie 3 par długości fal:

SI	COBAS INTEGRA	cobas c
Hemoliza (H)	$\lambda_1/\lambda_2 = 629/583 \text{ nm}$	$\lambda_1/\lambda_2 = 570/600 \text{ nm}$
Żółtaczka (I)	$\lambda_1/\lambda_2 = 512/480 \text{ nm}$	$\lambda_1/\lambda_2 = 480/505 \text{ nm}$
Lipemia (L)	$\lambda_1/\lambda_2 = 800/659 \text{ nm}$	$\lambda_1/\lambda_2 = 660/700 \text{ nm}$

Analizator automatycznie wylicza z odpowiednich wzorów wyniki H, I, L na podstawie zmierzonej absorbancji (rycina na następnej stronie).



Podsumowanie

Lipemia, żółtaczka i hemoliza stanowią poważny problem analityczny, który dotyczy zwłaszcza testów tzw. „mokrej chemii”. Wprowadzenie Indeksów surowiczych pozwala na oszacowanie ilościowe substancji interferującej i odrzucenie lub zakwalifikowanie próbki do dalszych pomiarów. Tym samym ograniczone zostaną błędy laboratoryjne, wynikające z fazy przedanalitycznej.

JAK DOKŁADNE SĄ WYNIKI INDEKSÓW?

Oznaczenie hemolizy i żółtaczki dobrze koreluje z jej stężeniem w próbce badanej. Indeks lipemii (IL) jest mierzony w jednostkach lipemii i opiera się na optycznym zachowaniu substytutu tłuszczowego, jakim jest Intralipid® (liniowość do 2000 mg/dL). Indeks lipemii w próbce wynika ze zmętnienia próbki, a nie ze stężenia triglicerydów. Związane jest to z faktem, że IL jest mierzony jako rozszczepienie światła, które zależy od rozmiaru cząstek.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Do oceny uzyskanych wyników SI należy skorzystać z rozdziału „Ograniczenia - substancje interferujące” zawartego w każdej ulotce metodycznej dla danego testu. Znajdują się tu informacje o wpływie hemolizy, żółtaczki czy lipemii na wynik określonego parametru. W celu ułatwienia interpretacji powyższe dane są dostępne także w formie zbiorczej tabeli.

POSTĘPOWANIE W PRZYPADKU PRZEKROCZENIA SI

Przekroczenie wartości SI powinno wykluczyć próbkę z analizy. W takiej sytuacji materiał powinien być ponownie pobrany. Sposób postępowania indywidualnie ustala każde laboratorium. Należy uwzględnić także wiek pacjenta, w przypadku próbek pochodzących np. od noworodków czy dzieci.

STOSOWANIE SI DO INNYCH NIŻ SUROWICA I OSOCZE PŁYNÓW BIOLOGICZNYCH

W moczu, płynie mózgowo – rdzeniowym i innych materiałach biologicznych nie zaleca się stosowania SI, ze względu na odmienną warunków spektrofotometrycznych. Instalacja tej funkcji jest dostępna na życzenie na analizatorach z rodziny Roche/Hitachi **cobas c** i COBAS INTEGRA.

Piśmiennictwo:

1. The Haemolytic, Icteric and lipemic Sample recommendations Regarding their Recognition and Prevention of Clinically Relevant Interferences. Recommendations of working group on preanalytical variables of the German Society of Clinical Chemistry and the German Society for laboratory Medicine. Lab Med vol.24 8/2000

Artykuł przygotowany na podstawie materiałów własnych Roche Diagnostics.

Witamina D: wytyczne dla Europy środkowej 2013 r.

Paweł Płudowski¹, Elżbieta Karczmarewicz¹, Danuta Chlebna-Sokół², Justyna Czech-Kowalska³, Romuald Dębski⁴, Anna Dobrzańska³, Edward Franek⁵, Piotr Głuszko^{6,7}, Jerzy Konstantynowicz^{8,9}, Janusz B. Książczyk¹⁰, Krystyna Księżopolska-Orłowska¹¹, Andrzej Lewiński¹², Mieczysław Litwin¹³, Roman S. Lorenc¹, Jacek Łukaszkiwicz¹⁴, Ewa Marcinowska-Suchowierska¹⁵, Andrzej Milewicz¹⁶, Waldemar Misiorowski¹⁷, Michał Nowicki¹⁸, Piotr Rozentryt¹⁹, Piotr Socha²⁰, Bogdan Solnica²¹, Mieczysław Szalecki^{22,23}, Marek Tałałaj¹⁵, Michał A. Żmijewski²⁴

1. Zakład Biochemii, Radioimmunologii i Medycyny Doświadczalnej. Instytut „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa
2. Klinika Propedeutyki Pediatrii i Chorób Metabolicznych Kości. Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź
3. Klinika Neonatologii, Patologii i Intensywnej Terapii Noworodka. Instytut „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa
4. II Klinika Położnictwa i Ginekologii. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
5. Klinika Chorób Wewnętrznych, Endokrynologii i Diabetologii. Centralny Szpital Kliniczny MSW, Zespół Kliniczno-Badawczy Epigenetyki Człowieka, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej, Polska Akademia Nauk, Warszawa
6. Klinika Reumatologii. Instytut Reumatologii, Warszawa
7. Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego, Kraków
8. Klinika Pediatrii i Zaburzeń Rozwoju Dzieci i Młodzieży. Uniwersytecki Dziecięcy Szpital Kliniczny, UMB, Białystok
9. Instytut Ochrony Zdrowia, Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa, Suwałki
10. Klinika Pediatrii i Żywienia. Instytut „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa
11. Klinika Rehabilitacji Reumatologicznej. Instytut Reumatologii, Warszawa
12. Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych. Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź
13. Klinika Nefrologii, Transplantacji Nerek i Nadciśnienia Tętniczego. Instytut „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa
14. Zakład Biochemii i Chemii Klinicznej. Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa
15. Klinika Medycyny Rodzinnej, Chorób Wewnętrznych i Chorób Metabolicznych Kości. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
16. Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami. Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław
17. Klinika Endokrynologii. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
18. Klinika Nefrologii, Hipertensjologii i Transplantologii Nerek. Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź
19. III Katedra i Oddział Kliniczny Kardiologii. Śląskie Centrum Chorób Serca Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, Zabrze
20. Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Zaburzeń Odżywiania. Instytut „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa
21. Zakład Diagnostyki. Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków
22. Klinika Endokrynologii i Diabetologii. Instytut „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa
23. Wydział Nauk o Zdrowiu. Uniwersytet Jana Kochanowskiego, Kielce
24. Katedra i Zakład Histologii. Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

WSTĘP

Badania ostatnich lat wykazały, że deficyt witaminy D towarzyszy i jest coraz częściej postrzegany jako czynnik ryzyka takich chorób jak nowotwory¹⁻³, choroba sercowo-naczyniowa⁴⁻⁶, cukrzyca obydwu typów⁷⁻⁹, nadciśnienie tętnicze¹⁰⁻¹², choroby autoimmunologiczne¹³⁻¹⁵, choroby metaboliczne^{16,17}, infekcje związane z niedoborami odporności¹⁸, oraz niektóre choroby neurologiczne i schorzenia psychiatryczne¹⁹. Badania epidemiologiczne dowodzą, że deficyt witaminy D jest powszechny zarówno w Polsce, jak i wśród mieszkańców krajów Europy Środkowej²⁰⁻²². Mimo wytycznych na temat suplementacji witaminą D opracowanych w Polsce (rok 2009), na Węgrzech (rok 2012), w Niemczech, Austrii i Szwajcarii (rok 2012)²³⁻²⁵, w Stanach Zjednoczonych (przez IOM – rok 2010 oraz przez *Endocrine Society* – rok 2011)^{26,27}, a także przez *International Osteoporosis Foundation* (rok 2010)²⁸ i wiele innych towarzystw naukowych, deficyt witaminy D pozostaje wciąż powszechny we wszystkich przedziałach wiekowych, stanowiąc globalny problem zdrowia publicznego. Naturalną konsekwencją tej sytuacji jest konieczność ciągłego uświadamiania społeczeństwu oraz środowisku medycznemu, jaką rolę odgrywa witamina D i jak istotne jest wyrównanie jej deficytu²⁹. W roku 2013 Zespół Ekspertów, na podstawie systematycznego przeglądu piśmiennictwa i krytycznej dyskusji, opracował i opublikował w Endokrynologii Polskiej – czasopiśmie Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego „Wytyczne suplementacji witaminą D dla Europy Środkowej – rekomendowane dawki witaminy D dla populacji zdrowej oraz dla grup ryzyka deficytu witaminy D”³⁰. Wytyczne suplementacji witaminą D opracowano dla wszystkich grup wiekowych populacji Europy Środkowej. Określono również kryteria diagnostyczne charakteryzujące stan zaopatrzenia organizmu w witaminę D oraz zalecenia dotyczące maksymalnych bezpiecznych dawek (*Tolerable Upper Intake Levels; upper limits* [ULs]) dla populacji osób zdrowych.

ZALECENIA SUPLEMENTACJI WITAMINĄ D DLA POPULACJI OSÓB ZDROWYCH

1. Noworodki i niemowlęta (0-12 miesięcy)

- Suplementacja witaminą D powinna rozpocząć się od pierwszych dni życia, niezależnie od sposobu żywienia noworodka (piers/mleko modyfikowane).
- Suplementacja w dawce 400 IU/dobę (10,0 µg/dobę) do 6 miesiąca życia.
- Od 6 miesiąca do 12 miesiąca życia suplementacja w dawce 400-600 IU/dobę (10,0-15,0 µg/dobę) zależnie od podaży witaminy D w diecie.

2. Dzieci i młodzież (1-18 lat)

- Suplementacja w dawce 600-1000 IU/dobę (15,0-25,0 µg/dobę), zależnie od masy ciała, w miesiącach wrzesień – kwiecień.
- Suplementacja w dawce 600-1000 IU/dobę (15,0-25,0 µg/dobę), zależnie od masy ciała, przez cały rok, jeśli nie jest zapewniona efektywna synteza skórna witaminy D w miesiącach letnich.

3. Dorośli (>18 lat) i seniorzy

- Suplementacja w dawce 800-2000 IU/dobę (20,0-50,0 µg/dobę), zależnie od masy ciała, w miesiącach wrzesień-kwiecień.
- Suplementacja w dawce 800-2000 IU/dobę (20,0-50,0 µg/dobę), zależnie od masy ciała, przez cały rok, jeśli nie jest zapewniona efektywna synteza skórna witaminy D w miesiącach letnich.
- Seniorzy (65+ lat) powinni otrzymywać suplementację w dawce 800-2000 IU/dobę

Słowa kluczowe:

witamina D, suplementacja, wytyczne



cobas® 6000
· zintegrowany system
biochemiczno-
immunochemiczny



cobas e 411
· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
małych i średnich
laboratoriów

osteoporoza i gospodarka wapniowo - fosforanowa:

Parametry oznaczane na analizatorach Roche:

b-CrossLaps (CTX)

Osteokalcyna

PINP

PTH intact

PTH (1-84) 3gen.

Witamina 25(OH)D

Kalcytonina

Wapń (Ca)

Fosforany (P)

Fosfataza zasadowa (ALP)

Kreatynina (Cr)

(20,0-50,0 µg/dobę), zależnie od masy ciała, przez cały rok, ze względu na obniżoną efektywność skórnej syntezy witaminy D.

4. Kobiety ciężarne i karmiące piersią

- Kobiety, które planują ciążę, powinny rozpocząć/utrzymać suplementację witaminą D zgodnie z wytycznymi dla dorosłych. Właściwa podaż witaminy D powinna być zapewniona przed ciążą.
- Suplementacja w dawce 1500-2000 IU/dobę (37,5-50,0 µg/dobę) powinna rozpocząć się nie później niż od drugiego trymestru ciąży. Ginekolodzy/położnicy powinni rozważyć włączenie suplementacji witaminą D wkrótce po potwierdzeniu ciąży.
- Jeśli to możliwe, okresowe monitorowanie stężenia 25(OH)D powinno być wykonywane w celu doboru optymalnej dawki witaminy D i weryfikacji skuteczności jej suplementacji. Celem suplementacji witaminą D jest uzyskanie i podtrzymanie stężenia 25(OH)D wynoszącego 30-50 ng/ml (75-125 nmol/L).

ZALECENIA SUPLEMENTACJI WITAMINĄ D DLA GRUP RYZYKA DEFICYTU WITAMINY D

1. Noworodki urodzone przedwcześnie

- Suplementacja witaminą D powinna być włączona od pierwszych dni życia (tak wcześnie jak możliwe jest żywienie enteralne).
- Suplementacja w dawce 400-800 IU/dobę (10,0-20,0 µg/dobę) powinna być zapewniona do momentu uzyskania wieku skorygowanego 40 tygodni; następnie: suplementacja w dawce rekomendowanej noworodkom urodzonym o czasie.

2. Otyłe dzieci i otyła młodzież

- Suplementacja w dawce 1200-2000 IU/dobę (30,0-50,0 µg/dobę), zależnie od stopnia otyłości, w miesiącach wrzesień-kwiecień.
- Suplementacja w dawce 1200-2000 IU/dobę (30,0-50,0 µg/dobę), zależnie od stopnia otyłości, przez cały rok, jeśli nie jest zapewniona efektywna synteza skórna witaminy D w miesiącach letnich.

3. Otyli dorośli i otyli seniorzy

- Suplementacja w dawce 1600-4000 IU/dobę (40,0-100,0 µg/dobę), zależnie od stopnia otyłości, przez cały rok.
- Racjonalna ekspozycja skóry na promieniowanie słoneczne jest bezpieczna i poprzez syntezę skórną stanowi dodatkowe źródło witaminy D.

4. Pracownicy nocnych zmian oraz ciemnoskóre osoby dorosłe

- Suplementacja w dawce 1000-2000 IU/dobę (25,0-50,0 µg/dobę), zależnie od masy ciała, przez cały rok dla osób dorosłych o ciemnej skórze.
- Suplementacja w dawce 1000-2000 IU/dobę (25,0-50,0 µg/dobę), zależnie od masy ciała, przez cały rok dla osób pracujących na nocnych zmianach, z wyraźnie ograniczoną aktywnością dzienną (tj. zmniejszoną szansą ekspozycji na promieniowanie UVB).

MAKSYMALNE DOPUSZCZALNE DOBOWE DAWKI WITAMINY D DLA POPULACJI OSÓB ZDROWYCH

Panel Ekspertów zdecydował o przyjęciu maksymalnych dobowych dawek witaminy D rekomendowanych przez *European Food Safety Authority* w dokumencie „*Scientific opinion on the Tolerable Upper Intake Levels of vitamin D for all relevant population groups*”³¹, z wyłączeniem otyłych dorosłych i otyłych seniorów.

- Noworodki i niemowlęta, 1000 IU/d (25,0 µg/d)
- Dzieci w wieku 1-10 lat, 2000 IU/d (50,0 µg/d)
- Dzieci i młodzież w wieku 11-18 lat, 4000 IU/d (100,0 µg/d)
- Dorośli i seniorzy z prawidłową masą ciała, 4000 IU/d (100,0 µg/d)
- Otyli dorośli oraz otyli seniorzy, 10 000 IU/d (250,0 µg/d)
- Kobiety ciężarne i karmiące piersią, 4000 IU/d (100,0 µg/d)

ZASADY LECZENIA PACJENTÓW ZE ZDIAGNOZOWANYM DEFICYTEM WITAMINY D

25(OH)D jako wskaźnik zaopatrzenia organizmu w witaminę D

Badania epidemiologiczne ujawniły istnienie korelacji między stężeniem 25(OH)D w surowicy krwi a istotnymi parametrami klinicznymi. Zjawisko to tłumaczy się szeroko udokumentowanym występowaniem 25(OH)D-1 α -hydroksylazy (CYP27B1) w wielu tkankach i narządach. Właściwe stężenie 25(OH)D w surowicy zapewnia odpowiednią podaż tego substratu nie tylko dla syntezy formy aktywnej hormonalnie - 1,25(OH)₂D w nerkach, ale także w wielu innych tkankach. Na stężenie 25(OH)D jako metabolitu o długim okresie półtrwania, ma wpływ efektywność dróg suplementacji - syntezy skórnej i absorpcji jelitowej witaminy D oraz procesów katabolicznych. Stężenie 25(OH)D jest uznawane za najlepszy wykładnik zaopatrzenia organizmu w tę witaminę i informuje o dostępności substratu do lokalnej syntezy aktywnego biologicznie 1,25(OH)₂D²⁹. Stężenie 25(OH)D w surowicy krwi wyraża się w nanogramach na mililitr lub w nanomolach na litr (1 ng/ml = 2,5 nmol/L). Standardem diagnostycznym są metody umożliwiające równoczesne oznaczenia 25(OH)D₂ i 25(OH)D₃ (25(OH)D CAŁKOWITA - TOTAL), z błędem wewnątrzserijnym <5% i międzyseryjnym <10%^{32,33}.

WSKAZANIA DO OZNACZANIA WITAMINY D

Przeprowadzone w Polsce badania wykazały, że deficyt witaminy D (stężenie 25(OH)D poniżej 20 ng/ml) występuje u 70% populacji^{20,21}. Przyczynami niedoborów witaminy D w zdrowej populacji są: obniżenie syntezy skórnej związane z szerokością geograficzną, stylem życia, używaniem filtrów UVB i procesami starzenia oraz niedostateczna podaż witaminy D w diecie i suplementach żywnościowych. Deficyt witaminy D towarzyszy dysfunkcji wątroby i nerek, zespołom upośledzonego trawienia i/lub wchłaniania, otyłości, a także bywają konsekwencją przewlekłego leczenia farmakologicznego (glikokortykosteroidy, leki przeciwpadaczkowe), a nieleczony znacznie ogranicza efektywność terapii podstawowej²¹. Wskazania do przynajmniej jednorazowego oznaczenia 25(OH)D w surowicy krwi przedstawiono w Tabeli 1.

Nadwrażliwość na witaminę D, czyli patologiczna odpowiedź na dawkę bezpieczną ma miejsce w niektórych schorzeniach, w których dochodzi do aktywacji 1 α -hydroksylazy (CYP27B1) i wzmożonej syntezy 1,25(OH)₂D, przełamującej barierę lokalną i powodującej w konsekwencji znaczny wzrost stężenia kalcytriolu³⁴. Są to takie schorzenia jak: sarkoidoza, ziarniniaki, pierwotna nadczynność przytarczyc oraz niektóre nowotwory. W schorzeniu wynikającym z defektu enzymu katabolizującego 1,25(OH)₂D (CYP24A1) czyli *Idiopathic Infantile Hypercalcemia* często przebiegającym bezobjawowo, dochodzi w wieku dojrzałym do wapnicy nerek³⁵. Suplementacja witaminą D w tych przypadkach powinna być szczególnie ostrożna i odbywać się pod kontrolą stężenia 1,25(OH)₂D w surowicy krwi. W przypadku pacjentów z zaburzeniami gospodarki wapniowo-fosforanowej suplementację



cobas e 601

· system immunochemiczny przeznaczony dla średnich i dużych laboratoriów



cobas® 6000

· zintegrowany system biochemiczno-immunochemiczny



cobas e 411

· system immunochemiczny przeznaczony dla małych i średnich laboratoriów



Test immunodiagnostyczny
· oznaczenie witaminy D
na platformie cobas

witaminą D należy prowadzić kontrolując co 3 miesiące stężenia 25(OH)D i podstawowych parametrów gospodarki wapniowo-fosforanowej.

Tabela 1. Wskazania do oznaczania stężenia 25(OH)D w surowicy

Krzywica, osteomalacja, bóle stawowo-mięśniowe, idiopatyczna lub wtórna osteoporoza, złamaniaiskoenergetyczne
Zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej, niezależnie od etiologii
Niedoczynność przytarczyc
Przewlekła steroidoterapia (dawka prednizonu ≥ 7 mg/dobę)
Terapia ketokonazolem
Terapia lekami przeciwdrgawkowymi
Terapia lekami antyretrowirusowymi
Zespoły upośledzonego trawienia i/lub wchłaniania, w tym mukowiscydoza
Długotrwała dieta eliminacyjna, zaburzenia odżywiania, żywienie pozajelitowe
Przewlekła choroba nerek (stadium 3-5), stan po przeszczepieniu nerki
Przewlekła niewydolność wątroby, cholestaza
Choroba ziarniniakowa
Choroby nowotworowe
Choroby układu krążenia, szczególnie nadciśnienie tętnicze
Choroby autoimmunizacyjne
Niektóre infekcje, m.in. wirusowe zapalenie wątroby typu C, nawracające ostre infekcje dróg oddechowych
Choroby alergiczne (m.in. astma, atopowe zapalenie skóry)

Leczenie pacjentów z potwierdzonym laboratoryjnie deficytem witaminy D

Pacjenci ze zdiagnozowanym deficytem witaminy D (Total 25(OH)D < 20 ng/ml) powinni otrzymywać lecznicze dawki witaminy D aż do uzyskania stężenia optymalnego 30-50 ng/ml (Tabela 2).

Tabela 2. Ocena stanu zaopatrzenia organizmu w witaminę D na podstawie stężenia 25(OH)D w surowicy dla wszystkich grup wiekowych.

	STĘŻENIE 25(OH)D W SUROWICY		DZIAŁANIE DO ROZWAŻENIA
	nmol/L	ng/ml	
Deficyt	0-50	0-20	Terapia deficytu
Stężenie suboptymalne	>50-75	>20-30	Zwiększenie/utrzymanie suplementacji witaminą D
Stężenie optymalne	>75-125	>30-50	Utrzymanie suplementacji witaminą D
Stężenie wysokie	>125-250	>50-100	Utrzymanie/obniżenie dawek witaminy D
Stężenie potencjalnie toksyczne	>250	>100	Powstrzymanie się od przyjmowania witaminy D do momentu uzyskania stężenia 25(OH)D w zakresie optymalnym
Poziom toksyczny	>500	>200	Leczenie potencjalnych efektów toksycznych

Terapia ciężkich i umiarkowanych deficytów witaminy D ma na celu wysycenie wszystkich kompartmentów ciała substratem – 25(OH)D do osiągnięcia stężenia >30 ng/ml. Terapia powinna trwać nie krócej niż 1 miesiąc (optymalnie 1-3 miesiące). Uzyskanie stężenia 25(OH)D >30 ng/ml po 3-6 miesiącach informuje o osiągnięciu pożądanego zaopatrzenia organizmu w substrat niezbędny dla pleiotropowego działania witaminy D.

PODSUMOWANIE

Suplementacja witaminą D opiera się na przyjęciu jednorodnych definicji oraz akceptacji właściwej terminologii w tej dziedzinie. Terminem „witamina D” określamy 2 związki należące do grupy 9,10-sekosterydów, czyli ergokalcyferol (witamina D₂) i cholekalcyferol (witamina D₃). Termin „witamina D” nie dotyczy jednakże jej metabolitów. Najczęstszym błędem w rozważaniach dotyczących leczenia deficytu witaminy D jest mylne postrzeganie kalcytriolu jako witaminy D. W leczeniu i profilaktyce deficytu witaminy D stosuje się ergokalcyferol (witaminę D₂), cholekalcyferol (witaminę D₃) lub kalcyfediol [25(OH)D₃], przy czym kalcyfediol znajduje zastosowanie w leczeniu deficytu towarzyszącego schorzeniom wątroby oraz powikłań leczenia przeciwpadaczkowego i glikokortykosteroidoterapii. Podawanie metabolitów lub analogów witaminy D, w tym alfakalcydiolu [1α-(OH)D₃], kalcytriolu [1α,25(OH)₂D₃], parakalcytolu [19-nor-1α 25(OH)₂D₂], doksekalcyferolu [1α-(OH)D₂], oksakalcytoliu [22-oxa-1α,25(OH)₂D₃] lub maksakalcytoliu [22-oxa-1α,25(OH)₂D₃] jest uznawane za leczenie hormonalne i nie ma wpływu na zaopatrzenie organizmu w witaminę D określane stężeniem 25(OH)D w surowicy krwi. Deficyt witaminy D jest powszechny w populacji Europy Środkowej, a postępująca zmiana trybu życia (unikanie słońca) oraz niska podaż tej witaminy w diecie dodatkowo pogłębiają ten problem. Szczególnej troski w aspekcie wyrównania powszechnego u nich deficytu witaminy D wymagają osoby w okresie intensywnego wzrostu i rozwoju biologicznego, a więc dzieci i młodzież w wieku 1-18 lat. Badania kliniczne z randomizacją i kontrolowane placebo (RCT) oraz metaanalizy dostarczają wysokiej jakości dowodów korzystnego działania witaminy D gdy stężenie 25(OH)D w surowicy wynosi 30-50 ng/ml, a więc zapewnia warunki dla efektywnej syntezy hormonu 1,25(OH)₂D we wszystkich kompartmentach organizmu. Jest to warunek konieczny do ujawnienia się korzystnych efektów klinicznych. Przy zalecanych dawkach witaminy D nie odnotowano istotnego zagrożenia działaniami ubocznymi, natomiast coraz więcej badań dokumentuje korzystne zmiany kliniczne prowadzące do wzrostu odporności organizmu oraz zmniejszenia ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, autoimmunologicznych, nowotworowych i mięśniowo-szkieletowych³⁶. Zespół Ekspertów rekomenduje regularną suplementację witaminą D poczynawszy od pierwszych dni życia aż do późnej starości³⁰.

Deficyt witaminy D 25(OH)D <20ng/ml (<50 nmol/L)

Dawki zalecane w terapii (przez 1-3 miesiące):

- Noworodki: 1000 IU/dobę
- Niemowlęta w wieku 1-12 miesięcy: 1000-3000 IU/dobę
- Dzieci i młodzież w wieku 1-19 lat: 3000-5000 IU/dobę
- Dorośli: 7000-10000 IU/dobę (zależnie od wagi ciała) lub 50000 IU/tydzień

Badanie kontrolne 25(OH)D powinno zostać wykonane po 3-4 miesiącach terapii, a następnie w odstępach półrocznych

Do rozważania badania ALP, P, Ca oraz kalcuria (Ca/Cr) co 1-3 miesiące



cobas e 601

· system immunochemiczny przeznaczony dla średnich i dużych laboratoriów



cobas® 6000

· zintegrowany system biochemiczno-immunochemiczny



cobas e 411

· system immunochemiczny przeznaczony dla małych i średnich laboratoriów

Piśmiennictwo:

- 1 Garland CF, French CB, Baggerly LL, Heaney RP. Vitamin D supplement doses and serum 25-hydroxyvitamin D in the range associated with cancer prevention. *Anticancer Res* 2011;31:617-622.
- 2 Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, Garland FC. Vitamin D for cancer prevention: Global perspective. *Ann Epi* 2009;19:468-483.
- 3 Grant WB. Relation between prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D level and incidence of breast, colorectal, and other cancers. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 2010;101:130-136.
- 4 Anderson JL, May HT, Horne BD i wsp. for the Intermountain Heart Collaborative (IHC) Study Group: Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population. *Am J Cardiol* 2010;106:963-968.
- 5 Wang L, Song Y, Manson JE i wsp. Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: A meta-analysis of prospective studies. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2012; 1:819-829.
- 6 Pilz S, Tomaschitz A, Marz W i wsp. Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011;75:575-584.
- 7 Mitri J, Muraru MD, Pittas AG. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *Eur J Clin Nutr* 2011;65:1005-1015.
- 8 Khan H, Kunutsor S, Franco OH, Chowdhury R. Vitamin D, type 2 diabetes and other metabolic outcomes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Proc Nutr Soc* 2012;30:1-9.
- 9 Pittas AG, Nelson J, Mitri J i wsp. Diabetes Prevention Program Research Group. Plasma 25-hydroxyvitamin D and progression to diabetes in patients at risk for diabetes: an ancillary analysis in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care* 2012;35:565-573.
- 10 Scragg R, Sowers M, Bell C. Serum 25-hydroxyvitamin D, ethnicity, and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Hypertens* 2007;20:713-719.
- 11 Pittas AG, Chung M, Trikalinos T i wsp. Systematic review: Vitamin D and cardiometabolic outcomes. *Ann Intern Med* 2010;152:307-314.
- 12 Burgaz A, Orsini N, Larsson SC, Wolk A. Blood 25-hydroxyvitamin D concentration and hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens* 2011;29:636-645.
- 13 Littorin B, Blom P, Schölin A i wsp. Lower levels of plasma 25-hydroxyvitamin D among young adults at diagnosis of autoimmune type 1 diabetes compared with control subjects: results from the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS). *Diabetologia* 2006;49:2847-2852.
- 14 Raghuvanshi A, Joshi SS, Christakos S. Vitamin D and multiple sclerosis. *J Cell Biochem* 2008;105:338-343.
- 15 Pappa HM, Gordon CM, Saslow TM i wsp. Vitamin D status in children and young adults with inflammatory bowel disease. *Pediatrics* 2006;118:1950-1961.
- 16 Hyppönen E, Boucher BJ, Berry DJ, Power C. 25-hydroxyvitamin D, IGF-1, and metabolic syndrome at 45 years of age: a cross-sectional study in the 1958 British Birth Cohort. *Diabetes* 2008;57:298-305.
- 17 Boucher BJ. Is vitamin D status relevant to metabolic syndrome? *Dermatoendocrinol* 2012;4:212-224.
- 18 Hewison M. Vitamin D and immune function: autocrine, paracrine or endocrine? *Scand J Clin Lab Invest (Suppl)* 2012;243:92-102.
- 19 Llewellyn DJ, Lang IA, Langa KM i wsp. Vitamin D and risk of cognitive decline in elderly persons. *Arch Intern Med* 2010;170:1135-1141.
- 20 Hilger J, Friedel A, Herr R i wsp. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr*. 2013;9:1-23.
- 21 Karczmarewicz E, Czekuć-Kryśkiewicz E, Płudowski P. Effect of vitamin D status on pharmacological treatment efficiency - impact on cost - effective management in medicine. *Dermatoendocrinology*, 2013;5:299-304.
- 22 Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 2006;116:2062-2072.
- 23 Chazewska J, Chlebna-Sokol D, Chybicka A i wsp. Prophylaxis of vitamin D deficiency-Polish recommendation 2009. *Polish Journal of Endocrinology* 2010;61:228-232.
- 24 Takacs I, Benko I, Toldy E i wsp. Hungarian consensus regarding the role of vitamin D in the prevention and treatment of diseases. *Orv Hetil* 2012;153(Suppl):5-26.
- 25 German Nutrition Society. New reference values for vitamin D. *Ann Nutr Metab* 2012;60:214-246.
- 26 IOM (Institute of Medicine). Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
- 27 Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA i wsp., Endocrine Society: Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1911-1930.
- 28 Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour JP i wsp. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int* 2010;21:1151-1154.
- 29 Wacker M, Holick MF. Vitamin D - effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients*. 2013;10;5:111-48.
- 30 Płudowski P, Karczmarewicz E, Bayer M, Carter G, Chlebna-Sokol D, Czech-Kowalska J, Dębski R, Decsi T, Dobrzańska A, Franek E, Glusko P, Grant WB, Holick MF, Yankovskaya L, Konstantynowicz J, Książek JB, Książkowska-Orłowska K, Lewiński A, Litwin M, Lohner S, Lorenc RS, Lukaszewicz J, Marcinowska-Suchowierska E, Milewicz A, Misiorowski W, Nowicki M, Povoznyuk V, Rozentryt P, Rudenka E, Shoenfeld Y, Socha P, Solnica B, Szalecki M, Tałała M, Varbiro S, Zmijewski MA. Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe - recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynol Pol*. 2013;64:319-27.
- 31 EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA): Scientific opinion on the tolerable upper intake level of vitamin D. *EFSA Journal* 2012;10:2813-1-45.
- 32 Singh RJ, Taylor RL, Reddy GS, Grebe SK. C-3 epimers can account for a significant proportion of total circulating 25-hydroxyvitamin D in infants, complicating accurate measurement and interpretation of vitamin D status. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3055-3061.
- 33 Lensmeyer G, Poquette M, Wiebe D, Binkley N. The C-3 epimer of 25-hydroxyvitamin D3 is present in adult serum. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:163-168.
- 34 Kavathia D, Buckley JD, Rao D i wsp. Elevated 1, 25-dihydroxyvitamin D levels are associated with protracted treatment in sarcoidosis. *Respir Med* 2010;104:564-570.
- 35 Schlingmann KP, Kaufmann M, Weber S i wsp. Mutations of CYP24A1 and Idiopathic Infantile Hypercalcemia. *New Engl J Med* 2011;365:410-421.
- 36 Płudowski P, Holick MF, Pilz S i wsp. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-A review of recent evidence. *Autoimmun Rev*. 2013;12:976-89.



Nasz adres:
Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.
ul. Wybrzeże Gdynskie 6B
01-531 Warszawa

obsługa klienta: tel. 22 481 54 00-05
faks 22 481 55 96
e-mail: polska.diagnostics@roche.com
internet: www.roche.pl

centrala: tel. 22 481 55 55, 56
faks 22 481 55 99
call center: tel. 22 481 54 54
e-mail: dia.callcenterpl@roche.com

COBAS i LIFE NEEDS ANSWERS są znakami
towarowymi należącymi do Roche
©2013 Roche Diagnostics

Przygotowanie do druku:
TAMKAPRESS