

# LabForum

*Przewodniczący  
Roche Diagnostics  
w Polsce*



Nr  
8





Siedziba Roche Diagnostics w Mannheim

## W reporterskim skrócie



Innowacje dla zdrowia

Warszawa, 31.09.2001 r.

Szanowni Państwo,

Na łamach naszego pisma spotykamy się już po raz ósmy, co oznacza dwa lata znajomości. Budzi się refleksja, czy czas ten spożytkowany został właściwie i z korzyścią? Patrząc wstecz wydaje się, że pomysł stworzenia tego kwartalnika był jak najbardziej trafiony. Zainteresowanie Państwa naszymi publikacjami stanowi dla nas potwierdzenie celowości naszej pracy i nagrodę. Opinie Państwa – jako czytelników i fachowców w swoich dziedzinach – zawsze były brane pod uwagę i wnikliwie analizowane. Cieszy nas, iż łamy LabForum stają się powoli forum dyskusyjnym środowiska diagnostycznego. Przy tej okazji chciałbym raz jeszcze zapewnić, że wszystkie nasze wysiłki zmierzają do osiągnięcia perfekcji, co – mamy nadzieję – przyczyni się do stałego rozwoju zawodowego Państwa, jako naszych czytelników.

Chciałbym w kilku słowach przekazać, co wydarzyło się w życiu naszej firmy w ostatnim okresie. Pod koniec sierpnia gościliśmy w Polsce dr. Jürgena Schwieзера, Przewodniczącego Roche Diagnostics oraz dr. Wulfa Fischera-Kunppertza, Przewodniczącego Roche Diagnostics Regionu Europy Wschodniej i Środkowej.

Tematyka spotkania oscylowała wokół dotychczasowych wyników finansowych oraz planów i założeń budżetowych naszej firmy na rok 2002. Ogólne prognozy dotyczące koncernu L. Hoffmann – La Roche na nadchodzące lata są wielce obiecujące i budujące. Planowane jest, wzorem ubiegłego roku, utrzymanie dwucyfrowego wskaźnika wzrostu sprzedaży i utrzymanie pozycji niekwestionowanego lidera diagnostycznego na świecie. W tworzeniu tego sukcesu mają udział wszystkie działy firmy, tj. Biochemia Molekularna, Diagnostyka Molekularna, Diagnostyka Scentralizowana, Diagnostyka przy Łóżku Chorego i Diabetologia. Jesteśmy przekonani, iż globalny sukces firmy na świecie znajdzie swoje odbicie także i na polskim rynku diagnostycznym. Więcej informacji na te tematy mogą Państwo znaleźć na stronach internetowych „[www.roche.com](http://www.roche.com)” – materiały z konferencji prasowej sumującej wyniki I półrocza 2001 r.

Jak zwykle nie pozostajemy obojętni na niedolę najbardziej potrzebujących i dotkniętych przez los. Firma Roche Diagnostics z założenia angażuje się w działania o zasięgu światowym, mające na celu podnoszenie jakości życia ludzi. Także i my – Roche Diagnostics Polska – wierni tej zasadzie, znaczną sumą pieniędzy zasililiśmy konto Funduszu Pomocy dla Powodzian.

Na zakończenie, chciałbym podziękować wszystkim Państwu, którzy odwiedzili nasze stoisko na XIV Zjeździe Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej w Poznaniu i tym, którzy wzięli udział w odbywającej się w trakcie tego Zjazdu sesji organizowanej przez naszą firmę. Obszerne sprawozdanie z tego największego w Polsce wydarzenia diagnostycznego znajdą Państwo w następnym numerze, do lektury którego już teraz zachęcam.

Z poważaniem,

Andrzej Banaszkiewicz

Dyrektor Generalny  
Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.

### Spis treści:

|                                                                                                      |      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| W reporterskim skrócie                                                                               | 2    |
| Zintegrowane Rozwiązania Opieki Zdrowotnej                                                           | 3    |
| Od łóżka chorego do laboratorium – a może odwrotnie?                                                 | 4-5  |
| Laboratoryjny System Informatyczny – zadania i cele                                                  | 6-7  |
| Wykorzystanie programu monitorowania komórek pnia w pozyskiwaniu komórek progenitorów krwi obwodowej | 8-10 |
| Cholesterol frakcji LDL parametr do mierzenia, a nie do wyliczania                                   | 11   |
| Analiza pilna i jej konsekwencje                                                                     | 12   |

### Nasz adres:

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.;  
Centrum Biurowe „Klif”  
ul. Okopowa 58/72, 01-042 Warszawa  
centrala: tel. 0-22/531 48 00  
faks 0-22/531 48 22

serwis: tel. 0-22/531 48 45  
faks 0-22/531 48 53  
dział zamówień: tel. 0-22/531 48 30-35  
faks 0-22/531 48 37  
internet: [www.rochediagnostics.pl](http://www.rochediagnostics.pl)

## Temat roku 2001

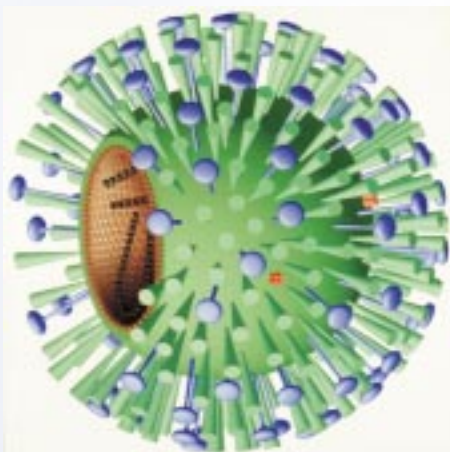
# Zintegrowane Rozwiązania Opieki Zdrowotnej

### Program FluCare – diagnoza i terapia grypy

#### Diagnostyka

Influenza A/B Rapid Test firmy Roche jest szybkim testem diagnostycznym. Test wykrywa obecność antygenów wirusa grypy w wydzielinach ludzkich, głównie w materiale z wymazu z gardła. Test posiada wysoką efektywność, oferuje standardowy format wyników, jest łatwy w użyciu, wynik uzyskuje się po 12 minutach.

Lekarze, którzy uczestniczą w programie monitorowania grypy pobierają wymaz z gardła pacjentów z podejrzeniem grypy. Przesyłają uzyskane w ciągu tygodnia wyniki do odpowiednich ośrodków monitorujących. Po ocenie wszystkich danych sporządzany jest raport podsumowujący i opisujący aktualną sytuację epidemiologiczną. Przesyłany jest on władzom medycznym, a następnie podawany do publicznej wiadomości.



Wirus grypy

#### Terapia

Grypa wywoływana jest przez wirusy typu A i B. Enzym neuraminidazy obecny w obu typach wirusów umożliwia uwalnianie się nowych wirusów z zainfekowanych komórek, a to powoduje rozprzestrzenianie się infekcji na inne komórki. Lek przeciw grypie firmy Roche pod nazwą Tamiflu jest inhibitorem neuramini-

dazy selektywnie blokującym ten enzym. Dzięki jego działaniu nowo powstałe wirusy pozostają związane z powłoką komórki i nie mogą się rozprzestrzeniać. Tamiflu występuje w postaci kapsułki, której aktywne składniki mogą szybko dotrzeć do wszystkich zainfekowanych organów.



Tamiflu

Badania terapeutyczne dowodzą skrócenia czasu choroby o 30–40%. Szczególnie znaczące jest to, że dotkliwe skutki grypy oraz związane z nią komplikacje (zapalenie oskrzeli czy zapalenie płuc) mogą być zredukowane o ponad 50%. Im wcześniej leczenie zostanie rozpoczęte, tym efektywniejsze będzie działanie leku. Wszystkie dotychczasowe badania wykazały dobrą tolerancję leku. Tamiflu jest już zarejestrowane w 30 krajach, m.in. w USA, Japonii, Kanadzie i Szwajcarii.

### Program CNSCare – diagnoza i terapia chorób Ośrodkowego Układu Nerwowego

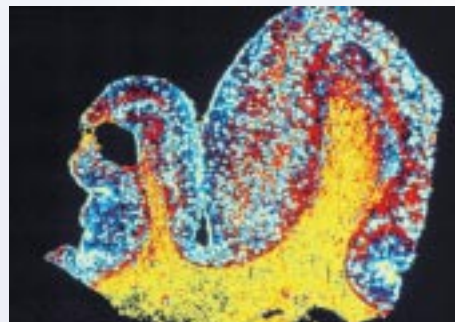
Choroba Alzheimer może być wywołana przez szereg różnego rodzaju czynników. Patogenezę choroby stanowi m.in. zachwianie równowagi w procesie wytwarzania peptydu A-beta poprzez proteolizę białek prekursorowych (APPs). Peptyd A-beta gromadząc się w mózgu wywołuje całą kaskadę zdarzeń prowadzących do neurodegeneracji wrażliwych komórek nerwowych. W rezultacie ilość neuroprzekazników (np. acetylocholina, somatostatyna, substancja P i norepinefryna) ulega zmniejszeniu. Klasyczna diagnostyka choroby Alzheimer polega na

ocenie klinicznej wg skali szacunkowej oraz ocenie innych przyczyn demencji.

Podobnie diagnostyka depresji polega obecnie na klinicznej ocenie symptomów, takich jak: osowiałość, obniżenie nastroju, utrata zainteresowania i odczuwania przyjemności, zmiana wagi, zaburzenia snu, poczucie wyczerpania i spadku energii, spowolnienie ruchów, zaburzenia koncentracji uwagi, odczucia bezsilności lub poczucie winy, powracające myśli o śmierci czy samobójstwie. Większość przypadków diagnozuje się na podstawie codziennego występowania co najmniej pięciu z powyższych symptomów przez okres przynajmniej dwóch tygodni. Współczesna medycyna stosuje różnego rodzaju leki przeciwdepresyjne, najczęściej przepisywane są leki z grupy inhibitorów zwrotnego wychwyty serotoniny i trócyklicznych leków przeciwdepresyjnych.

Roche Diagnostics podejmuje obecnie duży wysiłek w celu opracowania nowych markerów diagnostycznych pozwalających na wcześniejsze, celniejsze diagnozowanie i skuteczne monitorowanie takich chorób ośrodkowego układu nerwowego, jak choroba Alzheimer, depresja, lęki czy schizofrenia. Projekty badawcze prowadzone przez firmę koncentrują się również na opracowaniu lepszych – optymalnych metod terapeutycznych w celu obniżenia m.in. kosztów leczenia, które szacowane są w setkach miliardów dolarów.

Wykorzystywane są najnowsze osiągnięcia naukowe z takich dziedzin, jak proteomika, peptydomika czy genomika.



Wycinek kory mózgowej niszczony chorobą Alzheimer

# Współczesna diagnostyka chorób reumatycznych

## Od łóżka chorego do laboratorium – a może odwrotnie?

dr hab. med. Anna Jędryka-Góral, reumatolog, Zakład Ergonomii, Centralny Instytut Ochrony Pracy, Warszawa

Cd. z poprzedniego numeru

### Autoprzeciwciała w układowych zapalnych chorobach tkanki łącznej

Bogata symptomatologia serologiczna chorób tej grupy pozwala na stałe doskonalenie metod diagnostycznych służących wykrywaniu różnego rodzaju autoprzeciwciał. Podstawową techniką stosowaną do ich wykrywania jest metoda immunofluorescencji (IF) z wykorzystaniem hodowli komórkowej (najczęściej Hep-2) jako źródła antygeny. Jest to podstawowa metoda wykrywania przeciwciał przeciwjądrowych (ANA). Metodami uzupełniającymi są metoda przeciwbieżnej immunoelektroforezy (CIE) i podwójnej immunodyszufacji agarowej (ID), a ostatnio – technika Western blotting (immunoblotting). Przeciwciała ANA wykrywa się także metodami immunoenzymatycznymi (ELISA i EIA).

W chorobach układowych powstające przeciwciała mają charakter narządowo-niespecyficznych. Po połączeniu z autoantygenu (jądrowym, cytoplazmatycznym) powstają kompleksy immunologiczne, które krążąc w ustroju drogą naczyń krwionośnych ulegają zdeponowaniu w tkankach, a następnie, *in situ*, wiążą białka dopełniacza. Poziom dopełniacza ulega obniżeniu (najczęściej oznacza się  $CH_{50}$ ,  $C_3$ ,  $C_4$ ) w skutek jego „zużycia” w procesie wiązania w kompleksach immunologicznych.

W ten sposób dochodzi do powstania zmian zapalnych w różnych narządach i stąd choroby te mają charakter ogólnoustrojowy, czyli układowy.

Podstawowe jednostki chorobowe w grupie układowych chorób tkanki łącznej, wiodące objawy kliniczne oraz charakterystyczne dla nich autoprzeciwciała zestawiono w Tabeli II.

### Znaczenie diagnostyczne autoprzeciwciał

Obecność przeciwciał ANA można stwierdzić w niskim mianie u ok. 5% ludzi zdrowych, u osób starszych miano ich może być wyższe. W diagnostyce układowych chorób tkanki łącznej wykrycie obecności charakterystycznych przeciwciał pozwala na ustalenie rozpoznania, przeprowadzenie rozpoznania różnicowego, czasem – na rokowanie. Do przeciwciał o znaczeniu diagnostycznym należą np. przeciwciała

### Tłumaczenie skrótów do Tabeli II i III

**APS** = zespół antyfosfolipidowy; **CREST** = calcinosis, Raynaud, esophagitis, sclerodaktylia, teleangiectasie; **GZT** = guzkowe zapalenie tętnic; **MCHTL** = mieszana choroba tkanki łącznej; **NCHTL** = niezróżnicowana choroba tkanki łącznej; **Tog** = twardzina ograniczona; **TRU** = toczeń rumieniowaty układowy; **TRU II** = TRU indukowane lekami; **Tu** = twardzina układowa; **ZCh-S** = zespół Churg-Straussa; **ZS** = zespół Sjögrena; **ZSM** = zapalenie skóry-mięśniowe; **zW** = ziarniniak Wegenera; **ZWM** = zapalenie wielomięśniowe

Tabela II. Podstawowe układowe choroby tkanki łącznej – charakterystyka kliniczna i profil przeciwciał (wg Tyndalla A.)

| Choroba                 | Główne objawy kliniczne                                                             | Charakterystyczne przeciwciała                       |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| <b>TRU</b>              | Zmiany wielonarządowe, w tym nerki                                                  | nDNA, Sm                                             |
| <b>APS</b>              | Zakrzepica naczyń, <i>livedo reticularis</i>                                        | antykaroliolipinowe                                  |
| <b>ZS</b>               | Zmiany wielonarządowe, upośledzenie funkcji gruczołów wydzielania zewnętrznego      | SSA (Ro), SSB (La)                                   |
| <b>ZSM, ZWM</b>         | Oslabienie mięśni proksymalnych i zmiany skórne (ZSM)                               | Jo 1                                                 |
| <b>Tu</b>               | Stwardnienie skóry, objaw Raynaud, zapalenie przełyku +/- zmiany wielonarządowe     | Scl 70 (topoizomeraza 1 DNA), antycentromerowe (ACA) |
| <b>CREST</b>            | Wapnica skóry, objaw Raynaud, zapalenie przełyku, sklerodaktylia, teleangiektazje   | antycentromerowe (ACA)                               |
| <b>MCHTL</b>            | Kielbaskowaty obrzęk palców, objaw Raynaud, zapalenie stawów, zapalenie mięśni      | sn RNP                                               |
| <b>NCHTL</b>            | Zapalenie stawów, objaw Raynaud                                                     | ANA                                                  |
| <b>GZT mikroskopowe</b> | Zapalenie kłębuszków nerkowych, krwioplucie, zapalenie naczyń skóry                 | pANCA (mieloperoksydaza)                             |
| <b>GZT klasyczne</b>    | Zajęcie nerek, zapalenie nerwów obwodowych, zapalenie naczyń skóry i jamy brzusznej | pANCA (mieloperoksydaza)                             |
| <b>zW</b>               | Zajęcie górnych dróg oddechowych, zapalenie płuc, zapalenie kłębuszków nerkowych    | cANCA (proteinaza 3)                                 |
| <b>ZCh-S</b>            | Astma, eozynofilia, układowe zapalenie naczyń                                       | c i pANCA 50%                                        |

anty-Sm w toczniu rumieniowatym układowym, czy przeciwciała antycentromerowe w zespole CREST. Przeciwciała anty-nDNA w toczniu układowym, czy przeciwciała ANCA w ziarniniaku Wegenera mają dodatkowo znaczenie prognostyczne – ich wysokie miano zawsze towarzyszy dużej aktywności klinicznej choroby.

Niektóre przeciwciała mogą być wykryte już w bardzo wczesnym okresie choroby. Obecność przeciwciał ACA czy Scl-70, razem z objawem Raynaud (napadowe blednięcie palców rąk pod wpływem zimna) może na kilka lat wyprzedzić objawy kliniczne twardziny układowej.

Częstość występowania różnych przeciwciał w poszczególnych jednostkach chorobowych przedstawiono w Tabeli III.

ograniczonej (postać skórna, bez zmian narządowych) i dla zespołu CREST.

Przeciwciała przeciw topoizomerazie 1 DNA (Scl-70) są charakterystyczne dla twardziny układowej. Pojawienie się tych przeciwciał w zespole CREST ma niekorzystne znaczenie prognostyczne, gdyż może zwiastować przejście formy ograniczonej choroby, w postaci układową.

Przeciwciała do U1RNP są charakterystyczne dla mieszanej choroby tkanki łącznej. W toczniu układowym występują w przypadkach z zajęciem mięśni i błon surowiczych.

Przeciwciała do Sm są na tyle charakterystyczne dla tocznia układowego, że obok nDNA zostały umieszczone w kryteriach diagnostycznych TRU. Nie występują w innych chorobach.

**Tabela III. Korelacja pomiędzy rozpoznaniem układowej choroby tkanki łącznej a obecnością autoprzeciwciał (wg van Venrooij, van de Putte L.B.A.)**

| Przeciwciała do:                                                     | Rozpoznanie | Częstość (%)* |
|----------------------------------------------------------------------|-------------|---------------|
| Nukleosomy:<br>nDNA<br>Histony                                       | TRU         | 40            |
|                                                                      | TRU         | 70            |
|                                                                      | TRU il      | > 95          |
|                                                                      |             |               |
| Inne białka wiążące DNA:<br>Białka centromeru<br>DNA topoizomeraza I | Tog         | 50–70         |
|                                                                      | Tu          | 50–70         |
| Spliceosomy:<br>U1snRNA<br><br>U1RNP<br><br>Sm (U1-U6 RNP)           | TRU         | 4             |
|                                                                      | MCHTL       | 65            |
|                                                                      | TRU         | 30–40         |
|                                                                      | MCHTL       | > 95          |
|                                                                      | TRU         | 10–30         |
| Inne antygeny jądrowe:<br>La (SSB)<br><br>Mi-2                       | ZS          | 40            |
|                                                                      | TRU         | 15–35         |
|                                                                      | ZSM         | 15–20         |
| Składniki cytoplazmatyczne:<br>Jo-1<br>Ro (SSA)                      | ZWM         | 30–40         |
|                                                                      | ZS          | 60            |
|                                                                      | TRU         | 35            |
|                                                                      |             |               |

\* Częstość występowania autoprzeciwciał podana jest w przybliżeniu.

Przeciwciała do nDNA (dsDNA) charakterystyczne są dla tocznia rumieniowatego układowego, ich miano koreluje z aktywnością kliniczną choroby i ze zmianami w nerkach. W toczniu indukowanym lekami wykrywa się przeciwciała do ssDNA, mniej swoiste.

Przeciwciała przeciwhistonowe są charakterystyczne dla tocznia indukowanego lekami, znacznie rzadziej występują w toczniu idiopatycznym, czy w reumatoidalnym zapaleniu stawów.

Przeciwciała przeciwcetromerowe (ACA) są charakterystyczne dla twardziny

Przeciwciała do Ro(SSA) i La(SSB) występują zwykle razem. Są charakterystyczne dla pierwotnego zespołu Sjogrena, choć mogą też występować w toczniu układowym. Ich obecność może wiązać się z wystąpieniem tocznia noworodków, którego ryzyko ocenia się na ok. 5% w przypadku obecności tych przeciwciał w klasie IgG w surowicy matki.

Przeciwciała do Mi-2 są charakterystyczne dla zapalenia skórno-mięśniowego, choć nie występują one często.

Przeciwciała do Jo-1 są charakterystyczne dla zapalenia wielomięśniowego, zwłaszcza z zajęciem płuc.

Czynnik reumatoidalny (RF) jest przeciwciałem skierowanym do fragmentu Fc ludzkiej immunoglobuliny klasy IgG. Klasyczny czynnik reumatoidalny RF-IgM wykrywany jest w surowicy ok. 85% chorych na reumatoidalne zapalenie stawów (jego brak nie wyklucza rozpoznania tej choroby!). RF-IgG występuje zwykle łącznie z RF-IgM, we wczesnym okresie choroby. RF-IgA wiąże się ze wczesną postacią nadżerkową (destrukcyjną) reumatoidalnego zapalenia stawów.

Przeciwciała do  $\beta_2$ GPI – są pomocne w diagnostyce zespołu antyfosfolipidowego. Ich znaczenie wzrasta w nowoczesnej diagnostyce wczesnych zmian miażdżycowych.

Przeciwciała antyfosfolipidowe (aPLs) – z klinicznego punktu widzenia, w rozpoznaniu zespołu antyfosfolipidowego, istotne jest wykrycie przeciwciał antykar-diolipinowych (aCL-IgG i aCL-IgM) metodą ELISA i/lub tzw. antykoagulantą toczniowego (LAC) w modyfikowanych testach krzepnięcia krwi.

#### Piśmiennictwo (podstawowe):

1. Reumatologia kliniczna pod red. H. Chwalińskiej-Sadowskiej. Fundacja Rozwoju Kształcenia Medycznego DOCEO. Warszawa, 1995.
2. Standardy diagnostyczno-terapeutyczne w najczęstszych chorobach reumatycznych. Opracowane przez Polskie Towarzystwo Reumatologiczne. Reumatologia 2000, 38, Supl.
3. Dekada Kości i Stawów 2000–2010. Rok Pierwszy. Epidemiologia, stan profilaktyki, diagnostyki i leczenia chorób układu kostno-stawowego w Polsce. Perspektywy na dziesięciolecie pod red. J. Kruczyńskiego. ISBN. Kraków, 2000.
4. Metody diagnostyki serologicznej w reumatologii pod red. S. Lufta. PWN. Warszawa, 1996.
5. Van Venrooij W.J., van de Putte L.B.A. Autoantibodies and autoantigens: tools for multiple use. Rheumatology in Europe. 1996, 25, 1.
6. Muller G. Rheumatic diseases. Pathogenesis and diagnosis. Materiały szkoleniowe Roche Diagnostics. COBAS Core: Rheumatic diseases.
7. Tyndall A. The connective tissue diseases. Materiały szkoleniowe Roche Diagnostics. COBAS Core: Autoimmunity.

# Laboratoryjny System Informatyczny – zadania i cele

W sytuacji kiedy komputer staje się podstawowym narzędziem pracy, pojawia się pytanie, czy zakładać Laboratoryjny System Informatyczny (LSI), a jeżeli tak, to w jakim celu. Ułatwieniem decyzji niech będzie wybór dokonany w oparciu o doświadczenia zdobyte w krajach Europy Zachodniej, gdzie LSI jest standardem i własne – polskie – gdzie system ten ciągle jest prekursorski.

Aby LSI spełniał swoje zadania musimy wiedzieć, do czego ma służyć. Optymalizacja organizacji pracy laboratorium diagnostycznego poprzez wprowadzenie LSI polega przede wszystkim na zrozumieniu potrzeb laboratorium i określeniu możliwości ich zaspokojenia (w tym również finansowych). Przedstawione poniżej cechy Laboratoryjnego Systemu Informatycznego pozwolą Państwu z jednej strony sprecyzować własne oczekiwania, z drugiej zaś ocenić przydatność programu.

## Rejestracja

1. Zlecenia badań pacjentów wczytywane są automatycznie i opatrywane właściwym numerem identyfikacyjnym, np. PESEL (za pomocą czytników, ew. bezpośrednio z systemu działającego w placówce).
2. Możliwe manualne wprowadzanie danych równoległe i niezależnie od rejestracji automatycznej.
3. Jeśli pacjent jeszcze nie jest zarejestrowany – nadanie mu numeru wewnętrznego.
4. Numer wewnętrzny, po wprowadzeniu danych pacjenta, powinien być zamienialny na właściwy (stały) numer identyfikacyjny. Czynność ta nie może odbywać się automatycznie (pasywnie), lecz powinna być wykonywana przez personel laboratoryjny (aktywnie).

## Przechowywanie danych

5. Gwarancja archiwizacji danych pacjenta do 10 lat.
6. Dostęp bezpośredni do tych danych możliwy przez 1 rok.

7. Numeryienne nadawane przez system zgodne z kolejnością wprowadzania zleceń.

## Zlecenia

8. System musi dopuszczać, obok pojedynczych parametrów, dowolną ilość profili.
9. System nie powinien ograniczać ilości parametrów oznaczanych.
10. W punkcie menu „zlecenia” muszą być zawarte następujące informacje: nazwisko, imię, data urodzenia, nr zlecenia, zlecający, numer identyfikacyjny, zlecone analizy. Również w „zleceniach” powinna być zapewniona możliwość wprowadzenia dowolnej ilości komentarzy (w formie gotowych komentarzy lub komentarzy indywidualnych wpisywanych manualnie).
11. Personel laboratorium ma dostęp do wszystkich dziennych zleceń i wyników na monitorach komputerów zgodnie z kodami dostępu.

## Listy robocze

12. Listy robocze mają strukturę przystosowaną do miejsc pracy i zawierają następujące informacje: numer dzienny, numer identyfikacyjny, imię i nazwisko pacjenta, zleceniodawcę, rodzaj badanego materiału, zlecone parametry, numer strony.
13. Istnieje możliwość płynnego przejścia z pracy *on-line* do pracy sekwencyjnej (zgodnie z kolejnością wpisanych pacjentów) i odwrotnie.
14. Listy sekwencyjne zawierają następujące informacje: numer kolejny, numer nośnika materiału badanego (statyw – „rack”, mikro płytki), pozycję materiału w nośniku, numer zlecenia, rodzaj próbki.

## Listy otwartych zleceń (niekompletne wyniki)

15. Zbudowane są dla poszczególnych stanowisk pracy, jak i całego laboratorium.

16. Uwzględniają wszystkie otwarte zlecenia niezależnie od daty utworzenia (dowolnie wybieranej).
17. Zapewniają bezpośredni dostęp do wszystkich (dane demograficzne, wyniki) zgromadzonych danych pacjenta.
18. Niezależnie od list otwartych istnieją listy zleceń do pobrań na oddziałach (np. profile cukrowe) z analogicznymi informacjami.

## Rodzaj pracy

19. Wszystkie analizatory pracujące w trybie *on-line* muszą mieć zagwarantowaną możliwość zbierania i wysyłania danych jednocześnie.
20. Aktywność *on-line* nie może mieć negatywnego wpływu na inną działalność LSI i odwrotnie.
21. Oflagowania i komentarze wysłane przez analizatory powinny być uwidocznione na monitorach przy stanowiskach pracy.
22. Dla analizatorów pracujących w trybie *on-line* musi być zagwarantowana również możliwość manualnego wpisania, ew. dopisania wyników.

## Ocena / Odprawa wyników

23. Wszystkie wyniki pacjentów, które mieszczą się we wcześniej zdefiniowanym zakresie wartości prawidłowych, bezpośrednio po przekazie z analizatora do LSI, poddane są automatycznej akceptacji i odprawie do drukowania.
24. Niezależnie od odprawy automatycznej wyników musi być możliwa indywidualna ocena dokonywana przez uprawnionego operatora.
25. Odprawa indywidualna wyników jest odnoszona do analizatora lub stanowiska pracy. W wypadku wstrzymania partii wyników (np. kilku kolejnych zleceń, kilku parametrów) istnieje całkowita dowolność ponownej ich akceptacji według nr. zlecenia, parametru, nr. dziennego. Wyniki gotowe do odprawy powinny być sformatowane zgodnie z aktualnym

- mi potrzebami użytkownika, np. nr zlecenia, parametr, nr dzienny.
26. O ile wyniki kontroli jakości leżą poza zakresem oczekiwanym, odpowiednie parametry muszą zostać oflagowane i wyłączone z odprawy. Dopiero po wprowadzeniu korekty QC można „uwolnić” dany parametr, co równa się akceptacji wyniku.
27. Po automatycznej akceptacji wyników dostępne są następujące funkcje: odprawa wszystkich wyników, odprawa pojedynczych wyników, cofnięcie pojedynczych wyników/parametrów do powtórki, cofnięcie wszystkich wyników/parametrów do powtórki.

#### Drukowanie

28. Tylko odprawione (zaakceptowane) wyniki mogą być drukowane!
29. Wyniki nie odprawione są drukowane tylko na zlecenie operatora, tzn. nie mogą być drukowane automatycznie.
30. Opcje drukowania:  
Drukowanie tak pojedynczych jak i wszystkich wyników z danego dnia.  
Drukowanie wyników podzielonych na zlecających.  
Drukowanie pojedynczych parametrów.
31. Opcja ponownego drukowania.
32. W wydruku skumulowanym jest zawarte minimum 5 wyników poprzednich tego samego pacjenta.
33. Bezpośrednie wysyłanie wyników faksem i/lub pocztą elektroniczną.  
Wynik ostateczny powinien zawierać: imię, nazwisko, datę urodzenia, zleczone analizy, wyniki, wartości oczekiwane, zleceniodawcę.

#### Kontrola jakości

34. Podprogram kontroli jakości.
35. Wyniki kontroli natychmiast ulegają automatycznej akceptacji – przy niezgodności z kryteriami kontrolnymi odpowiednie parametry mogą być blokowane przy akceptacji.  
Wszystkie wyniki kontrolne są zabezpieczone przed niepożądaną modyfikacją, która jest możliwa, ale musi być opatrzona komentarzem i dokonana tylko przez autoryzowany personel.  
Wynik pierwotny jest widoczny po wywołaniu.

36. Program nie ogranicza ilości i typów kontroli.

#### Listy sekwencyjne

37. Dzielenie długich list sekwencyjnych na dowolne odcinki oraz wpisanie dodatkowych kontroli w dowolnym miejscu.

#### Dane statystyczne

38. Oblicza dane statystyczne kontroli jakości.
39. Różnicuje dane na liczbę zleceń, liczbę parametrów, kalibracje i kontrole.
40. Przydatne funkcje statystyczne:  
a. statystyka dla potrzeb zleceniodawcy „punkty wyceniające badania” (o ile są w użyciu) oraz koszty.  
b. statystyka dla potrzeb indywidualnego pacjenta jw.  
c. statystyka monitorowania ilości badań od poszczególnych zleceniodawców (ilościowa ocena zleceń wpływających w różnych porach dnia). Odczyt tych danych jest możliwy według następujących kryteriów: jednego lub wielu dni, tygodnia, miesiąca, kwartału i roku.

#### Baza danych

- Zleceniodawcy, parametry badane, dane pacjentów itp.
41. System gwarantuje najwyższą elastyczność w modyfikacji baz danych stałych.

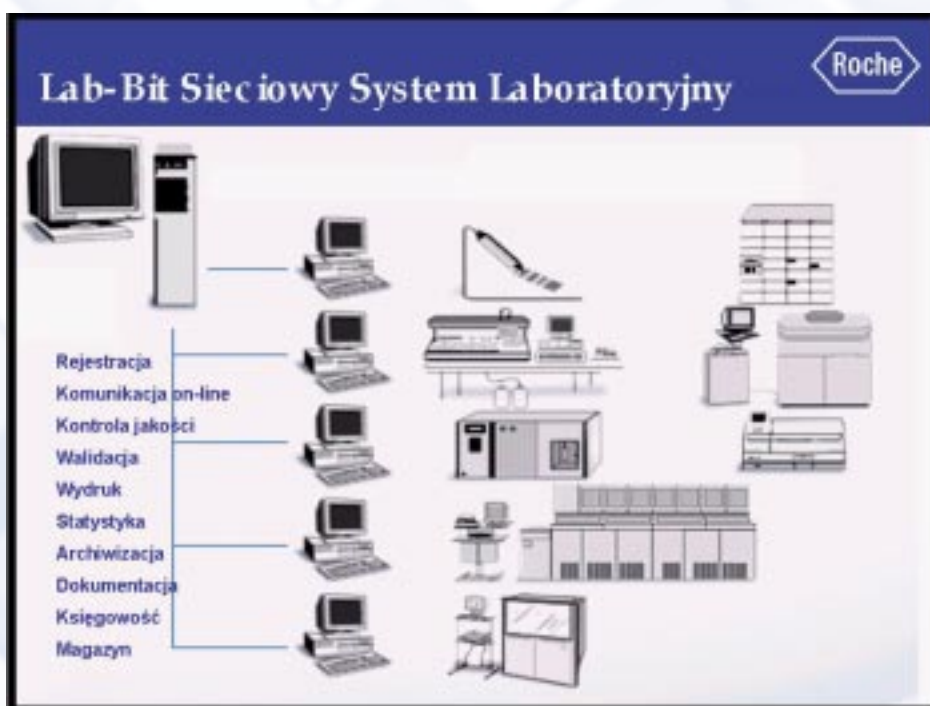
Wszelkie zmiany dokonywane są tylko przez autoryzowany personel (kod dostępu).

**Na koniec jeszcze parę ogólnych uwag!**

- Program obsługiwany jest przez pojedyncze klawisze. (Nie kombinacje np. Alt +).
- Program zawiera pełną dokumentację wykonywanych modyfikacji (bazy danych, wartości oczekiwanych itp.).
- Wszystkie procesy laboratoryjne związane z LSI są wykonywalne równolegle. Funkcje programu wykonywalne są na każdym z terminali niezależnie.
- LSI posiada zabezpieczenie dostępu, zróżnicowanie poziomu dostępności dla wielu klas użytkownika.

*Powyższe informacje są zgodne z zaleceniami Komisji Organizacji i Komputeryzacji Kolegium Medycyny Laboratoryjnej w Polsce.*

Mamy nadzieję, że przedstawione przez nas informacje na temat Laboratoryjnego Systemu Informatycznego pozwolą Państwu raz jeszcze przeanalizować celowość komputeryzacji laboratorium. Jednocześnie pragniemy poinformować, że oferowany i dystrybuowany przez firmę Roche Diagnostics system Lab-Bit spełnia wymagania użytkowników. Pracuje już w kilkunastu laboratoriach w Polsce!



## Hemostaza

# Wykorzystanie programu monitorowania komórek pnia w pozyskiwaniu komórek progenitorów krwi obwodowej

Katsuyasu Saigo, Takeshi Sugimoto, Hiroki Narita, Tsutomu Nomura, Yoshitsugu Kubota, Isao Hara, Satoshi Takeuchi, Yoshiuuki Kosaka, Hideaki Matsumoto, Riukichi Ryo i Shun-ichi Kumagai

### Wstęp od redakcji

Szanowni Państwo, chcąc zaprezentować unikatowe możliwości analizatora hematologicznego Sysmex XE-2100 proponujemy w najbliższych numerach LabForum lekturę artykułów poświęconych klinicznemu wykorzystaniu hemopoetycznych komórek progenitorowych, oznaczanych przez analizator Sysmex SE-9000, na który powołują się autorzy artykułu. Jest to poprzednia wersja oferowanego obecnie przez firmę Roche Diagnostics analizatora XE-2100. Zastosowanie najnowocześniejszych technologii pomiarowych w analizatorach hematologicznych Sysmex, z wykorzystaniem cytofluorometrii przepływowej, nie tylko do różnicowania komórek retikulocytarnych, otwiera możliwość oznaczania parametrów dotąd nie oznaczanych za pomocą analizatorów rutynowych.

Sysmex XE-2100



### Słowa kluczowe

Komórki pnia krwi obwodowej (PBSC), Program monitorowania komórek pnia, Komórki progenitorowe (HPC), Jodek propidyny (PI).

Przeszczepienie komórek pnia krwi obwodowej (PBSC – Peripheral Blood Stem Cell) jest szeroko stosowaną metodą leczenia różnych nowotworów złośliwych oraz schorzeń autoimmunologicznych. Poddaliśmy ocenie użyteczność Programu Monitorowania Komórek Pnia (SCMP – Stem Cell Monitor Program), dostępnego w automatycznym analizatorze hematologicznym SE-9000<sup>TM</sup> (Sysmex Co), w przewidywaniu czasu pobierania oraz liczby zebranych komórek pnia z krwi obwodowej. Otrzymana dzięki SCMP liczba hemopoetycznych komórek progenitorowych (HPC – Hematopoietic Progenitor Cell) korelowała z liczbą komórek CD34+ zarówno we krwi obwodowej, jak i w produkcie aferezy. Liczba hemopoetycznych komórek progenitorowych, otrzymana dzięki użyciu SE-9000, jako szybko i łatwo dostępna, ma szczególne znaczenie w przewidywaniu optymalnego czasu ich pobierania. Istnieje jednak kilka szczegółów zasługujących na uwagę. Po pierwsze próbki przed analizą nie powinny być zbyt długo przechowywane z uwagi na stopniowy spadek liczby HPC. Po drugie, w naszym badaniu, stosunek HPC/CD34+ wzrastał z 2,5 do 4 wraz ze wzrostem leukocytozy.

Zawartość hemopoetycznych komórek progenitorowych w produkcie aferezy znacząco korelowało z liczbą komórek CD34+. Jednakże liczba komórek progenitorowych rosła po pobraniu, dlatego też rekomendowanym jest potwierdzenie ich liczby tak szybko, jak to jest możliwe. Liczba martwych komórek CD34+ w rozpuszczonym w PBS produkcie aferezy w temperaturze pokojowej wynosiła 32,4% po 24 godzinach. Jednym z powodów takiej niestabilności może być niska żywotność komórek w produkcie aferezy. Dla otrzymywania stabilnych HPC celowym wydaje się być użycie RPMI 1640.

Biorąc powyższe rozważania pod uwagę, SCMP jest użyteczny w monitorowaniu czasu pobierania PBSC.

(Sysmex J Int 9: 151–159, 1999)

### WPROWADZENIE

Przeszczepienie komórek pnia krwi obwodowej (PBSC) jest szeroko stosowane w transplantacjach autologicznych<sup>1,2)</sup> wymagających podania wysokodozowanej chemioterapii w różnych nowotworach złośliwych. Istnieje w ten sposób możliwość wymiany szpiku kostnego, podobnie jak w przypadku transplantacji allogenicznej<sup>3)</sup>. Są również wskazania by tą drogą leczyć, nie poddające się konwencjonalnej terapii, choroby autoimmunologiczne<sup>4)</sup>.

Bardzo ważnym zagadnieniem jest skuteczne pobranie mobilizowanych do krwi obwodowej komórek pnia w optymalnym czasie przed procedurą przeszczepienia. Jednak są przypadki, w których do mobilizacji komórek pnia do krwi obwodowej nie doszło, mimo wzrostu leukocytozy obwodowej lub określenie czasu pobierania komórek nastręcza trudności z uwagi na powolny wzrost leukocytów i płytek. Mając to na uwadze, oszacowaliśmy użyteczność informacji pozyskanych z kanału informującego o komórkach niedojrzałych (IMI – Immature Information) dostępnego w SE-9000<sup>TM</sup> (Sysmex Co)<sup>5,6)</sup>. Wyniki opisano poniżej.

### MATERIAL I METODY

#### Material

Uzyskano 23 próbki komórek krwi pacjentów, u których pobierano komórki pnia z krwi obwodowej. Populację pacjentów stanowiło: 9 pacjentów z rakiem sutka, 4 pacjentów z ostrą białaczką, 6 pacjentów z chłoniakami złośliwymi, 2 pacjentów z rakiem jajnika i 2 pacjentów z rakiem jądra.

Wiek chorych wynosił od 16 do 69 lat, średnia wieku wynosiła 49 lat. Obserwowano również zmiany w czasie w próbkach krwi pobranej od 4 pacjentów w fazie chronicznej, przewlekłej białaczki szpikowej (CML).

#### Metoda pobrania

Mobilizacja komórek pnia do krwi obwodowej następowała po podaniu preparatów G-CSF, poczynając od dnia najniższego poziomu leukocytozy po chemioterapii. Jako G-CSF, podawano filgrastim podskórnie u większości pacjentów przez kilka kolejnych dni, lub lenograstim podawany w ciągłej infuzji<sup>7)</sup> i dodatkowo podawany również podskórnie w dniu poprzedzającym pobranie komórek pnia. Komórki pnia pozyskiwano używając separatora CS-3000+ (Baxter). Po jedynkowej aferezie poddawano 150–200 ml krwi/kg masy ciała chorego, zabieg powtarzano 2- lub 3-krotnie. Pobieranie rozpoczynano w momencie szybkiego wzrostu leukocytozy do ok. 10 000/ $\mu$ l, zabieg prawie zawsze kontynuowano w czasie 2–3 dni.

#### Identyfikacja strefy komórek pnia na skatergramie IMI

W kanale IMI, dojrzałe komórki i erytrocyty są lizowane przez specjalny odczynnik STROMATOLYSER-IM. Pozostałe niedojrzałe leukocyty są analizowane dwuwymiarowo w układzie częstotliwości radiowej (RF – Radio Frequency) i prądu stałego (DC – Direct Current)<sup>8)</sup>. Populacje komórkowe klasyfikowane są ze względu na informacje wewnątrzkomórkowe takie jak ziarnistość dla RF na osi rzędnych, natomiast rozmiar i objętość komórek dla DC na osi odciętych. Z tych powodów, obserwacji poddane są komórki o niskich lokalizacjach na diagramie IMI, gdzie ich dojrzałość maleje (Rys. 1). Program monitorowania komórek pnia skupia uwagę na strefie, gdzie mogą lokalizować się komórki CD34+ (Rys. 2), mając jednocześnie możliwość zliczania hemopoetycznych komórek progenitorowych (HPCs)<sup>9)</sup>. Przydatność kliniczna programu SCMP była badana w odniesieniu do wszystkich niedojrzałych leukocytów pojawiających się na diagramie IMI jako komórek niedojrzałych IMI, a także do komórek strefy progenitorowej (HPCs).

#### Rozcieńczenie próbek

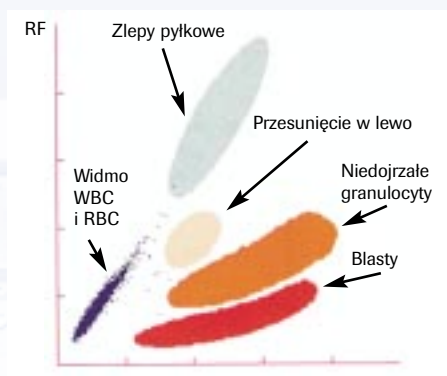
W zależności od potrzeb krew obwodowa i pobierane próbki produktów afe-

rezy były rozcieńczane w soli fizjologicznej. W przypadku leukocytozy powyżej 100 000/ $\mu$ l, próbki produktu aferezy były oceniane po rozcieńczeniu. W tych przypadkach jako diluentu użyto RPMI 1640 lub autologicznego osocza.

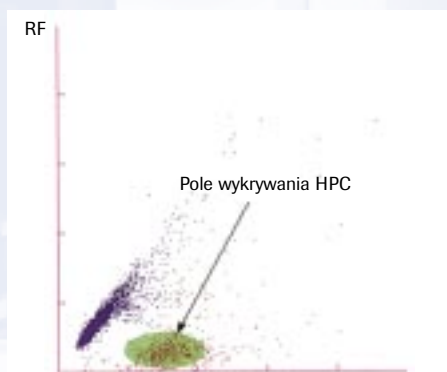
#### Liczenie komórek CD34+ i komórek martwych za pomocą cytometrii przepływowej

Po uzyskaniu liczebności  $10^4$ ,  $10^6$  komórek w  $\mu$ l krwi obwodowej lub produktu aferezy z PBS poddawano reakcji z przeciwciałami anti-CD45-PerCP (Beckton Dickinson) w ciągu 30 minut. Erytrocyty lizowano roztworem chlorku amonu, płukano, a następnie oceniano komórki CD34+ używając FACS Calibur (Becton Dickinson) (CD45 blast gating method)<sup>10)</sup>.

Liczbę komórek martwych oceniano w każdej próbce używając jodku propidyny (PI). Szczegółowo próbki znakowano anti-CD34-FITC i jednocześnie poddawano działaniu PI w stężeniu końcowym 1  $\mu$ g/ml. Po płukaniu – liczba komórek barwiących się PI była oceniana w odniesieniu do całej populacji leukocytów i do komórek CD34+<sup>11)</sup>.



Rys. 1. Lokalizacja młodych form krwinek białych na skatergramie IMI

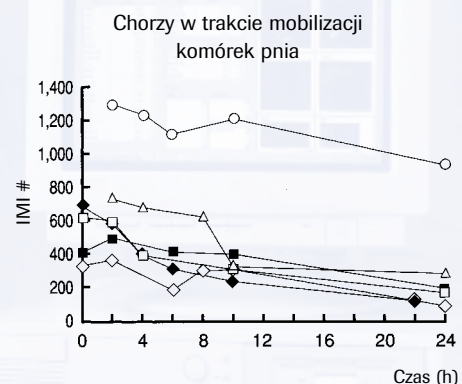
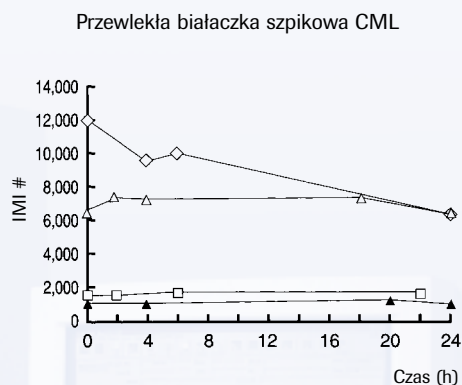


Rys. 2. Lokalizacja komórek znakowanych

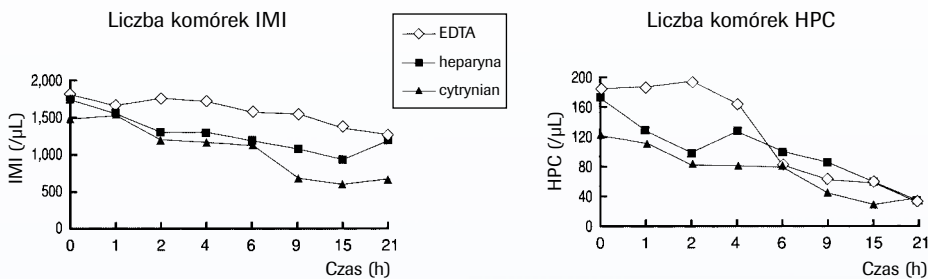
## WYNIKI

### Zmiany w czasie komórek IMI

Obserwowano zmiany zachodzące w komórkach niedojrzałych IMI w próbkach krwi obwodowej, przechowywanych w temperaturze pokojowej, a pobranych od chorych z przewlekłą białaczką szpikową (CML) oraz chorych w trakcie mobilizacji komórek pnia (Rys. 3). W grupie chorych z CML w jednej z próbek liczba komórek niedojrzałych IMI zmniejszyła się, podczas gdy w pozostałych trzech nie obserwowano większych zmian w ciągu 24 godzin. Podobnej obserwacji poddano hemopoetyczne komórki progenitorowe (HPC). W przeciwieństwie do poprzednich, u wszystkich sześciu chorych poddanych zbiorze komórek pnia, liczba komórek niedojrzałych IMI miała tendencję do stopniowego zmniejszania się w czasie przechowywania. Biorąc powyższe spostrzeżenia pod uwagę, kolejne pomiary wykonywano do trzech godzin od pobrania krwi.



Rys. 3. Zmiany zachodzące w komórkach niedojrzałych IMI (próbki przechowywane w temperaturze pokojowej)



Rys. 4. Wpływ różnych antykoagulantów na detekcję komórek niedojrzałych

### Wpływ antykoagulantów

Obserwacje wpływów działania różnych antykoagulantów (EDTA, heparyna, cytrynian) na wykrywalność komórek niedojrzałych (IMI) i progenitorowych (HPC) wykazały, że najbardziej stabilne wyniki daje stosowanie EDTA-2K (Rys. 4). Jednakże nawet w tych warunkach po 4 godzinach przechowywania liczba HPC spadała.

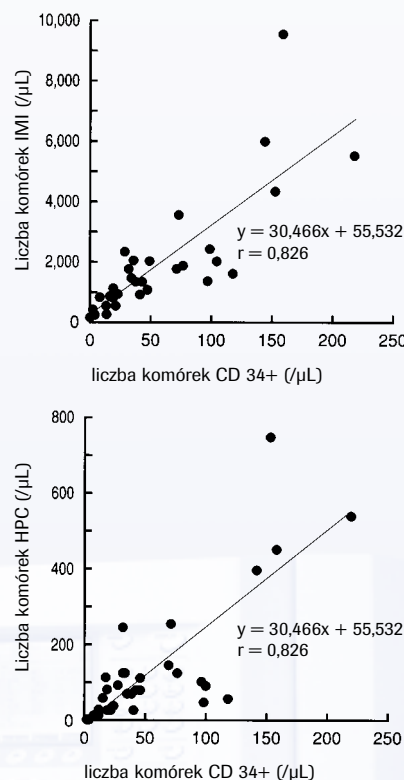
### Relacje między komórkami progenitorowymi (HPC) i komórkami niedojrzałymi (IMI) krwi obwodowej a liczbą komórek CD34+

Zgodnie z wynikami opublikowanymi poprzednio<sup>5,6)</sup>, nasze badania krwi obwodowej pobranej w dniu zbiórki komórek pnia, wykazały korelację między liczbą komórek CD34+ a liczbą komórek niedojrzałych IMI ( $r = 0,826$ ), a także między liczbą komórek CD34+ a liczbą hemopoetycznych komórek progenitorowych ( $r = 0,808$ ) (Rys. 5), wskazując tym samym na użyteczność parametrów kanału IMI w określeniu czasu kolekcji komórek pnia. Przyjęta liczba hemopoetycznych komórek progenitorowych (HPC) była 2–3 razy większa od liczby komórek CD34+ (stosunek HPC/CD34 = 2,5).

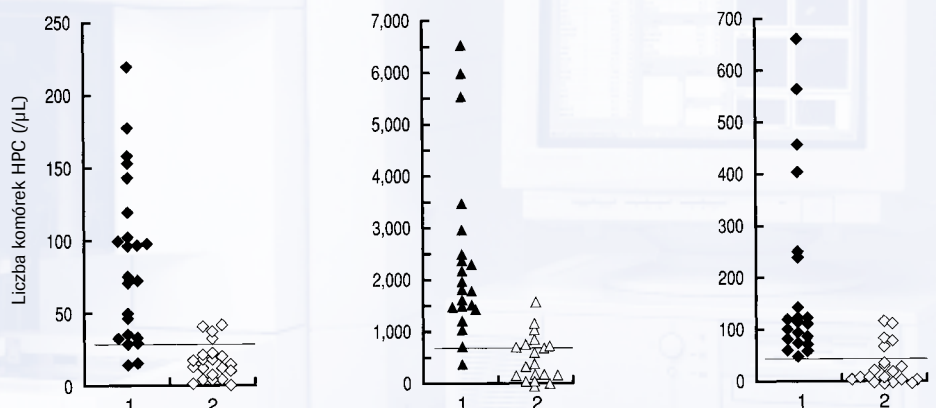
Dla każdego z parametrów krwi obwodowej (komórki CD34+, HPC, IMI) dane były rozmieszczane w dwóch kolumnach, zależnie od możliwości uzyskania  $1 \times 10^6$  CD34+ komórek/kg lub więcej w dniu zbiórki: w pierwszej kolumnie – skuteczna zbiórka, w drugiej – nieskuteczna. Jak pokazano na Rys. 6, skuteczne kolekcje miały miejsce, jeżeli liczba komórek niedojrzałych przekraczała  $750/\mu\text{L}$ , a HPC –  $40/\mu\text{L}$ . Wartości te odpowiadały prawie równej czułości pomiarów (dla CD34+: 91,7%, dla IMI: 95,7%, dla HPC: 100%). Jak widać na Rys. 6, uwagę zwraca nakładanie się wyników skutecznych i nieskutecznych zbiórek komórek niedojrzałych IMI. Natomiast dla

HPC istnieje stosunkowo wyraźna rozdzielność wyników między obiema wymienionymi wyżej sytuacjami.

cd. w następnym numerze



Rys. 5. Korelacja pomiędzy komórkami CD-34+ a liczbą komórek IMI i HPC



Rys. 6. Różnice pomiędzy trzema pomiarami krwi obwodowej 1. Skuteczne pomiary; 2. Nieskuteczne pomiary

### Piśmiennictwo:

- 1) Shigematsu H, Gondo H: Autologous blood stem cell transplantation in hematological malignancy. *Saishin Igaku*, 53 (2): 84–94, 1998.
- 2) Siegert W, i wsp.: High-dose chemotherapy with autologous stem cell support in poor-risk germ cell tumors. *Ann Hematol*, 76 (5): 183–188, 1998.
- 3) Sawada H, i wsp.: Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in 30 patients with hematologic disorders. *Jpn J Clin Hematol*, 39 (11): 1085–1091, 1998.
- 4) Burt RK, i wsp.: Treatment of autoimmune disease by intense immunosuppressive conditioning and autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 92 (10): 3505–3514, 1998.
- 5) Saigo K, i wsp.: Optimum timing of peripheral blood stem cell harvest using SE-9000 IMI channel – In the cases of patients with breast cancer-. *Sysmex J Int*, 7: 71–81, 1997.
- 6) Saigo K, i wsp.: Usefulness of an automated hematology analyser, SE-9000, in determination of the optimal time for harvest of peripheral blood stem cells. *Jpn J Transfusion Medicine*, 44 (5): 605–609, 1998.
- 7) Takeuchi S, i wsp.: A clinical study of continuous microinfusion of recombinant human G-CSF (lenograstim) in ovarian cancer patients with granulocytopenia due to chemotherapy –fundamental study of serum concentration of lenograstim during continuous microinfusion-. *Biotherapy*, 10 (9): 1193–1199, 1996.
- 8) Ishii T, Kawasumi I, Matsumoto H: SE-9000 IMI channel –focusing on the roles and functions of surfactant-. *Sysmex J Int*, 7: 123–128, 1997.
- 9) TOA Medical Electronics Co., Ltd.: The outline of stem cell monitor program. *Sysmex J Int*, 7: 82–88, 1997.
- 10) Miyazaki T, i wsp.: How to measure CD34 positive cells in peripheral blood (in Japanese). *Jpn J Apheresis*, 15 (2): 201–205, 1996.
- 11) Anthony RS, i wsp.: Flow cytometry using annexin V can detect early apoptosis in peripheral blood stem cell harvests from patients with leukemia and lymphoma. *Bone Marrow Transplant*, 21: 441–446, 1998.
- 12) Yamane T, i wsp.: Possibility of identification of hematopoietic stem cells using a conventional blood cell counter. *Eur J Haematol*, 55: 207–208, 1995.
- 13) Mougi H, i wsp.: Determining the optimal time for peripheral blood stem cell harvest by detecting immature cells (immature leukocytes and immature reticulocytes) using two newly developed automatic cell analyzers. *Int J Hematol*, 66: 303–313, 1997.
- 14) Spencer A, i wsp.: Collection and analysis of peripheral blood mononuclear cells during haemopoietic recovery following PBSCT for CML: autografting as an in vivo purging manoeuvre? *Bone Marrow Transplant*, 21: 101–103, 1998.

## Chemia kliniczna

# Cholesterol frakcji LDL parametr do mierzenia, a nie do wyliczania

W diagnostyce, klasyfikacji i ocenie efektów leczenia hiperlipoproteinemii oraz w ocenie ryzyka zagrożenia miażdżycą i chorobą niedokrwienną serca szczególną uwagę przywiązuje się do oznaczania poziomu cholesterolu frakcji LDL (*Low Density Lipoproteins*).

Metodą referencyjną oznaczania CH-LDL jest ultrawierowanie połączone z precypitacją. Jednak ze względu na pracochłonność, długotrwałość i kosztowność metody nie może ona być wykorzystywana w pracy rutynowej. Do użytku w codziennej praktyce laboratoryjnej, klinicznej i epidemiologicznej stosowano dotychczas metodę rachunkową wyliczania cholesterolu frakcji LDL stosując formułę Friedewalda  $CH-LDL = CH - CH-HDL - TG/5$ . Ma ona jednak pewne ograniczenia. Nie można stosować jej, gdy poziom triglicerydów przekracza 400 mg/dl oraz gdy w próbce obecne są chylomikrony i frakcje pośrednie (IDL) (*Intermediate Density Lipoproteins*).

### Metodyka

Pomiar cholesterolu frakcji LDL metodą bezpośrednią oparty jest na znajomości własności fizykochemicznych cząstek lipoproteinowych poszczególnych klas. Pozwala to na różnicowanie lipoprotein LDL od pozostałych za pomocą dwustopniowej reakcji enzymatycznej.

W metodzie tej cząstki lipoproteinowe inne niż LDL (VLDL, HDL, Chylomikrony) są rozpuszczane w pierwszej fazie reakcji specyficznym detergentem, a uwolniony z nich cholesterol wchodzi w reakcję z enzymami (CE/CHOD). W tej fazie reakcji cząstki LDL pozostają niezmienniczone. Nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ) produkowany w reakcji enzymów z cholesterolu uwolnionym z cząstek VLDL, HDL i z Chylomikronów jest

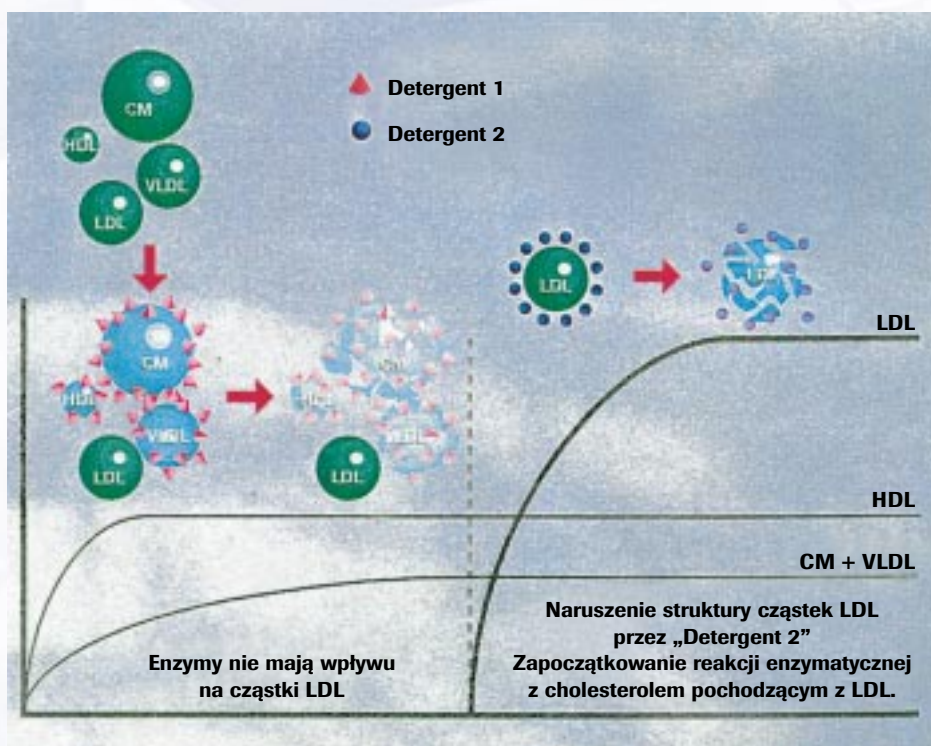
zużywany w reakcji z 4-aminoantypiryną (4-AAP) z wytworzeniem bezbarwnego produktu.

W drugiej fazie reakcji, po usunięciu cholesterolu pochodzącego od cząstek lipoproteinowych innych niż LDL, dodawany jest drugi detergent zawierający w swoim składzie disulfobutylometatoluidynę, jako czynnik sprzęgający  $H_2O_2$  i 4-AAP. Cząsteczki cholesterolu zawarte w cząstkach LDL są uwalniane pod wpływem drugiego detergentu i wchodzi w reakcję enzymatyczną w obecności czynnika sprzęgającego z wytworzeniem barwnej chininoiminy, której ilość jest proporcjonalna do stężenia cholesterolu LDL w próbce.

Bezpośrednia metoda oznaczania cholesterolu frakcji LDL odczynnikami Roche Diagnostics wykorzystuje drugą gene-

rację technologii wybiórczego trawienia, podobnie jak w metodzie bezpośredniej oznaczania cholesterolu frakcji HDL. Test pozwala na łatwe, szybkie, dokładne i precyzyjne pomiary cholesterolu frakcji LDL, bez procesu wstępnego przygotowywania próbki.

Wyniki badań wykazują wysoką korelację z metodą referencyjną, duży stopień tolerancji na substancje interferujące (triglicerydy do 1200 mg/dl). Poziom cholesterolu LDL może być badany również w próbkach nie pobieranych na czczo. Te wszystkie zalety testu w połączeniu z wysoką precyzją i całkowitym błędem oznaczeń mniejszym niż zaleca to Narodowy Program Edukacji Cholesterolowej w USA (NCEP) zachęcają do zastąpienia metody wyliczeniowej pomiarem.



# Parametry krytyczne

## Analiza pilna i jej konsekwencje

Pomiary pH i gazów krwi są nierzadko zalecane jako analiza pilna dla potwierdzenia rozpoznania, podjęcia decyzji o sposobie leczenia, monitorowania tlenoterapii, co jest często sprawą złożoną i kosztowną. Osoba pobierająca materiał do badań przenosząc próbkę do laboratorium oraz analityk odpowiedzialny za wynik muszą postępować zgodnie z rutynową procedurą, zbierając jednocześnie wszystkie, dostępne informacje potrzebne do uzyskania jak najlepszych wyników. W niektórych przypadkach materiał pobiera ta sama osoba, która dokonuje pomiaru. Jest to sytuacja zbliżona do ideału (z punktu widzenia jakości wyniku), jednak rzadko spotykana. Dla przykładu, w dużych jednostkach szpitalnych, w etapach między przygotowaniem a pomiarem próbki krwi uczestniczy cztery do pięciu osób. Jedynie doskonale porozumienie, sprawność w przekazywaniu informacji między oddziałem i laboratorium oraz dobra organizacja może wyeliminować większość problemów przedanalizacyjnych. W odróżnieniu od zwyczajnej identyfikacji próbki, stosowanej dla większości analiz, materiał do analiz parametrów kwasowo-zasadowych winien być uzupełniony dodatkowo o minimum danych klinicznych:

- czas pobrania
- stan oddechowy (oddech własny, wspomagany czy też kontrolowany, przepływ tlenu itp.).

Są to bardzo istotne dane dla laboratorium. Idealnym uzupełnieniem jest podanie wartości  $\text{FIO}_2$  (zmiana frakcji wdychanego tlenu), co niestety, nie zawsze jest możliwe.

Niektórzy producenci sprzętu diagnostycznego oferują specjalne zestawy do pobierania materiału, celem ułatwienia pracy zarówno laboratorium, jak i klinicyście na oddziale. Wspomniane zestawy mają za zadanie eliminację czy chociaż zmniejszenie ryzyka kontaktu z powietrzem, błędy wynikające z rozcieńcza-

nia, z przemian w próbce itp. wraz z jednoczesnym zmniejszeniem objętości krwi. Na szczególną uwagę zasługują przyrządy do pobierania krwi firmy Roche Diagnostics.

### Mikrosampler Roche

Jest to urządzenie do pobierania krwi tętnicznej opracowane w 1980 roku przez zespół pod kierunkiem G. Marsonera. Pozwala ono na pobranie krwi z tętnicy promieniowej, ramiennej czy też udowej oraz umożliwia uniknięcia większości klasycznych błędów związanych z dotychczasowym stosowaniem zestawu strzykawka-igła.



Mikrosampler Marsonera

W urządzeniu tym, krótka igła o przekroju 0,45 mm nasadzona jest na oprawkę umożliwiającą kontakt igły z dwoma szklanymi kapilarami. Kapilary do pobierania krwi połączone są w szereg przy pomocy „U-rurki” na końcu przeciwnym od nasadki dla igły. Zawierają powłokę heparyny, co zapobiega wykrzepianiu się krwi. Kapilary chronione są osłonką, na której można wpisać dane identyfikujące próbkę.

Tętnicę lokalizuje się palpacyjnie i nakłuwa pod kątem  $45^\circ$  do  $90^\circ$  kierując ostrze igły pod prąd płynącej krwi. Zaraz po przekłuciu ściany naczynia krew napłyna wolno pierwszą kapilarę z widoczną pulsacją, co jasno wskazuje, że została nakłuta tętnica.

Po napłnieniu kapilar igłę należy usunąć i miejsce nakłucia ucisnąć na około 2 minuty. Uraz po nakłuciu jest niewielki, a krwawienie po pobraniu – minimalne ze względu na mały przekrój igły.

Igła osłonięta jest kapturkiem na czas transportu próbki do laboratorium, aby uniknąć samoukłucia oraz kontaktu z powietrzem atmosferycznym. W obu kapilarach mieści się około 240 mikrolitrów krwi, co pozwala na podwójny pomiar parametrów kwasowo-zasadowych lub pomiar podstawowego zestawu elektrolitów ( $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$  lub  $\text{Cl}^-$ ) przy pomocy elektrod.

A oto podstawowe zalety MICROSAMPLERA firmy Roche potwierdzone 8000 mikronakłuciami:

- Mała objętość próbki (240 mikrolitrów)
- Ograniczona ilość błędów

- Minimalna ilość miejscowych urazów oraz krwiaków, wyjątek stanowią tu pacjenci poddani terapii antykoagulantami. Brak powikłań zatorowo-zakrzepowych
- Brak błędów spowodowanych kontaktem z powietrzem atmosferycznym lub efektem rozcieńczania spowodowanym płynną heparyną lub jonami wprowadzonymi do próbki przez heparynę
- Zmniejszenie licznych błędów spowodowanych metabolizmem własnym próbki w ciągu 60 minut w temperaturze pokojowej. Błąd jest nieistotny, jeśli próbka jest przechowywana przez ten czas w temperaturze  $4^\circ\text{C}$ .

Mikrometoda ta jest prosta, mniej urazowa i mniej podatna na błędy, pozwala pobrać próbkę w doskonale jałowych warunkach oraz umożliwia wielokrotne pobranie próbki bez ryzyka dla naczyń i dla pacjentów.