



cobas

Life needs answers

Nr
33

ISSN 1644-8448

nakład: 1000 egz.

LabForum

Najserdeczniejsze Życzenia Świąteczne
i Noworoczne składa
zespół Roche Diagnostics

Roche



Szanowni Państwo,



W związku ze zbliżającymi się Świętami chciałbym złożyć serdeczne życzenia szczęśliwych i radosnych Świąt Bożego Narodzenia oraz wszelkiej pomyślności i sukcesów w nadchodzącym roku wraz z podziękowaniami za dotychczasową owocną współpracę. Wspólnie z całym zespołem Roche Diagnostics Polska życzę Państwu, aby przy świątecznym stole nie zabrakło światła i ciepła rodzinnej atmosfery, a Nowy Rok niósł ze sobą szczęście i pomyślność.

Korzystając z okazji chciałbym również poinformować o zmianach organizacyjnych w naszej firmie. Wychodząc naprzeciw oczekiwaniom klientów i odpowiadając na rosnące potrzeby rynku utworzyliśmy dział odpowiedzialny za kompleksową obsługę posprzedażną. Satysfakcja klientów z oferowanych im usług jest bowiem kluczowa dla prawidłowego rozwoju naszej firmy. Na czele Działu Rozwoju i Obsługi Posprzedażnej od 1 listopada stanął Piotr Góral. Dział ten będzie ściśle współpracował z końcowymi odbiorcami naszych produktów i usług oraz zintegruje działania w zakresie serwisu technicznego – serwisu aplikacyjnego – informatyki laboratoryjnej – administracji i logistyki serwisu.

Jednocześnie Dział Sprzedaży i Marketingu Professional Diagnostics, w skład którego wchodzi biochemia, immunodiagnostyka, hematologia, koagulologia i NPT objęła Renata Popielecka, która pracuje na rynku diagnostyki in vitro od 12 lat i jest wielu z Państwa dobrze znana. W ramach swoich kompetencji będzie ona również odpowiadała za zarządzanie kluczowymi klientami. Renata Popielecka jest wysoce wykwalifikowanym i doświadczonym pracownikiem, czego dowodem jest przebieg jej kariery i liczne sukcesy zawodowe.

W związku z reorganizacją, zmianie uległy telefony kontaktowe. Piotr Góral jest dostępny pod numerem +22 481 55 37, a Renata Popielecka – +22 481 55 45, 601 216 355.

Adresy mailowe: piotr.goral@roche.com, renata.popielecka@roche.com

Jesteśmy przekonani, że wprowadzone zmiany zostaną przez Państwa przyjęte z zadowoleniem i służyć będą dalszej, owocnej współpracy.

Życzymy ciekawej lektury bieżącego numeru,
z poważaniem,

Andrzej Banaszekiewicz
wraz z zespołem RDP

Spis treści:

Standardy oznaczeń 25-hydroksywitaminy D 2007	3–7
Zastosowanie szybkiej diagnostyki NT-proBNP w kardiologii – nowe perspektywy dla klinicystów	8–9
cobas® c 111 w małym laboratorium	10–12
Oznaczanie szybkości reakcji sedymentacji we krwi przy użyciu systemu TEST 1 – porównanie z metodą Sedi-matic 100, turbidymetryczną metodą oznaczania poziomu fibrynogenu oraz wpływ białek monoklonalnych	12–14
Mity na temat cukrzycy	15

Nasz adres:

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.
ul. Wybrzeże Gdyńskie 6B
01-531 Warszawa

centrala: tel. 0-22/481 55 55, 56
faks 0-22/481 55 99

serwis: tel. 0-22/481 54 54–60
faks 0-22/481 55 95
obsługa klienta: tel. 0-22/481 54 00–05
faks 0-22/481 55 96
e-mail: polska.diagnostics@roche.com
internet: www.rochediagnostics.pl

Standardy oznaczeń 25-hydroksywitaminy D 2007

Elżbieta Karczmarewicz¹, Jacek Łukaszkiwicz², Ewa Skorupa¹, Roman S. Lorenc¹

Słowa kluczowe

Witamina D, 25(OH)D, absorpcja wapnia, złamania, upadki, nowotwory

Keywords

Vitamin D, 25(OH)D, calcium absorption, fractures, falls, cancer

Wstęp

Badania populacyjne wykazały, że właściwe zaopatrzenie organizmu w witaminę D optymalizuje gęstość mineralną kości, funkcje kończyn dolnych, obniża ryzyko upadków i złamań kości, zmniejsza częstość zapalenia przyzębia, redukuje o 30–50% ryzyko wystąpienia raka stercza, jelita grubego, piersi i jajników. W ostatnich latach stało się wiadomym, że oprócz nerek, synteza 1,25(OH)₂D z 25(OH)D zachodzi również w szeregu innych miejsc organizmu. Keratynocyty, aktywowane makrofagi, komórki stercza, gruczołu sutkowego, nabłonka jelitowego i wiele innych mogą także przeprowadzać tę reakcję. Wiadomo też, że przy braku funkcji nerek stężenie 1,25(OH)₂D w układzie krążenia spada do wartości niewykrywalnych. 25(OH)D, ze względu na długi okres półtrwania (około 3 tygodni) jest głównym parametrem oceny zaopatrzenia organizmu w witaminę D₃. Pomiar stężenia 25(OH)D₃ w surowicy informuje o ilości dostępnego substratu dla syntezy aktywnego hormonalnie kalcitriolu w nerkach i innych tkankach obwodowych. Dlatego u osób zdrowych dorosłych i młodzieży zaleca się suplementację witaminą D do uzyskania optymalnego stężenia 25(OH)D w surowicy > 30 ng/ml. Przy upośledzeniu syntezy 1,25(OH)₂D w nerkach zaleca się hormonalną terapię zastępczą kalcitriolem lub jego analogami.

Witamina D

Terminem witamina D określamy 2 związki należące do grupy 9,10-sekosterydów. Są to: witamina D₂ (ergokalcylferol, m.cz. 396,7) występująca w organizmach roślinnych i grzybach oraz witamina D₃ (cholecalcylferol, m.cz. 384,6) występująca w organizmach zwierzęcych. Różnią się one jedynie budową łańcucha bocznego (Rys. 1.). Witamina D spełnia kryteria witaminy z definicji, która mówi: *witaminą jest substancja, której niedobory w diecie mogą wywoływać stany chorobowe związane z brakiem tej substancji*. Terminem witamina D nie określamy metabolitów witaminy D.

25(OH)D (kalcidiol)

Pierwszym etapem aktywacji metabolicznej witaminy D jest podstawienie grupy hydroksylowej przy atomie węgla numer 25. Głównym miejscem, w którym zachodzi 25-hydroksylacja witaminy D jest wątroba. 25(OH)D spełnia kryteria prehormonu z definicji, która mówi: *prehormon jest substancją wydzielaną przez gruczoły wewnętrzne, nieposiadającą aktywności biologicznej; prehormon przekształcaný jest obwodowo do aktywnego hormonalnie produktu, którym w przypadku witaminy D jest 1,25(OH)₂D (kalcitriol)*. 25(OH)D, ze względu na długi okres półtrwania (około 3 tygodni) jest głównym parametrem oceny zaopatrzenia organizmu w witaminę D. Pomiar stężenia 25(OH)D w surowicy informuje o ilości substratu dostępnego dla syntezy aktywnego hormonalnie kalcitriolu w nerkach i innych tkankach obwodowych.

1,25(OH)₂D (kalcitriol)

1,25(OH)₂D jest aktywnym hormonalnie metabolitem witaminy D. Syntetyzowany jest nie tylko w nerkach, ale także wielu innych tkankach i komórkach, takich jak

jelito, osteoblasty, makrofagi, komórki układu immunologicznego, reprodukcynego, prostata czy przytarczycze.

Kalcitriol działa za pośrednictwem specyficznych receptorów (VDR), mających charakter typowych czynników transkrypcyjnych. Gen kodujący receptor witaminy D znajduje się u człowieka na chromosomie 12q. Częsteczka receptora składa się z 427 aminokwasów. Związanie 1,25(OH)₂D z VDR umożliwia ekspresję około 200 genów ukierunkowanych zarówno na działanie w zakresie „klasycznym” – udział w regulacji homeostazy mineralnej organizmu, jak i „nieklasycznym” – poprzez receptory aktywnej formy witaminy D odkryte i nadal odkrywane w tkankach, narządach i komórkach nie związanych z gospodarką mineralną.

1,25(OH)₂D – działanie klasyczne

Podstawową rolą 1,25(OH)₂D syntetyzowanego w nerkach jest regulacja ogólnoustrojowej homeostazy wapniowo-fosforanowej poprzez oddziaływanie na nerki, jelito i kości. W jelicie 1,25(OH)₂D ułatwia przenikanie wapnia do wnętrza enterocyta, zwiększa szybkość przepływu wapnia przez cytozol komórki oraz jego transfer przez błonę podstawną do układu krążenia. W nasileniu transportu fosforanów bierze udział zależny od witaminy D kotransporter sodowo-fosforanowy.

W przypadku kości witamina D jest niezbędna dla zapewnienia jej prawidłowej mineralizacji, przy czym czyni to poprzez zapewnianie właściwej dostępności wapnia i fosforanów w krążeniu. 1,25(OH)₂D jest również jednym z czynników stymulujących wytwarzanie przez osteoblasty kolagenu, na którym odkładają się nowe kryształy hydroksyapatytu. Jednak w obecności podwyższonych stężeń parathormonu (PTH) aktywna forma

¹ Zakład Biochemii i Medycyny Doświadczalnej, Instytut „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

² Akademia Medyczna w Warszawie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Biochemii i Chemii Klinicznej, Warszawa

witaminy D stymuluje osteoblasty do wytwarzania cytokin pobudzających osteoklasty do wzmożonej resorpcji kości. Inne z wytworzonych przez osteoblasty czynników powodują fuzję prekursorów osteoklastów i tworzenie dojrzałych osteoklastów. Ten kierunek działania witaminy D powoduje podwyższanie stężenia wapnia i fosforanów w krążeniu związany z resorpcją kości.

Kolejnym narządem biorącym udział w regulacji homeostazy mineralnej są nerki. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ zsyntetyzowany w nerkach pod wpływem stymulacji PTH, poprzez receptory witaminy D znajdujące się w komórkach kanalików nerkowych hamuje swoją własną syntezę uruchamiając równocześnie 24-hydroksylazę, co prowadzi do zwiększenia produkcji $24,25(\text{OH})_2\text{D}$.

Kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy mineralnej odgrywają przytarczycy. Poprzez obecny na komórkach głównych w nich VDR aktywna forma witaminy D hamuje syntezę i wydzielanie PTH.

1,25(OH)₂D – działanie nieklasyczne

Oprócz tkanek i narządów biorących udział w utrzymaniu homeostazy mineralnej, receptory witaminy D odkryto w bardzo wielu innych lokalizacjach. W niektórych z nich, jak np.: trzustka, nadnercza, tarczyca, przysadka, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ pełni rolę regulatora ich czynności wydzielniczej. W pozostałych, do których należą komórki układu odpornościowego, krwiotwórczego, skóry, mięśni, ale także komórki różnych nowotworów (czerniak, nowotwory piersi, prostaty, jelita grubego i inne), $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ spełnia rolę czynnika ułatwiającego różnicowanie, antyproliferacyjnego i regulującego angiogenezę. Jest to między innymi wynik zatrzymania cyklu odnośnych komórek we wczesnej fazie podziału – G1.

W ostatnich latach stało się wiadomym, że oprócz nerek, wytwarzanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ z $25(\text{OH})\text{D}$ zachodzi również w szeregu innych miejsc. Keratynocyty, zaktywowane makrofagi, komórki prostaty, gruczołu sutkowego, nabłonka jelitowego i wiele innych mogą także przeprowadzać tę reakcję. Tęgo rodzaju model działania $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ obejmuje regulację proliferacji i różnicowania

się komórek oraz apoptozy. Implikacją tych auto- i parakrynych działań witaminy D jest przekonanie, że regulacja poziomu wytwarzanego przez hydroksylazy obwodowe $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ odbywa się na szczeblu lokalnym, w miejscu jego powstawania i działania, niezależnie od ogólnoustrojowego układu zapewniającego homeostazę mineralną.

W tabeli 1. przedstawiono charakterystykę $25(\text{OH})\text{D}$ i $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. $25(\text{OH})\text{D}$ jako metabolit o długim okresie półtrwania, modyfikowany jedynie przez syntezę skórną i wchłanianie jelitowe, jest najlepszym wskaźnikiem zaopatrzenia organizmu w witaminę D.

Tabela 1. Charakterystyka metabolitów witaminy D

Parametry charakterystyki	25(OH)D	1,25(OH) ₂ D
Stężenie w surowicy	8–50 ng/ml	20–60 pg/ml
Okres półtrwania	25 dni	7 godzin
Wpływ czynników zewnętrznych	UV, suplementacja, pożywienie	Unieruchomienie, Ca
Wpływ hormonów	Nie wpływają	1,25(OH) ₂ D, PTH, FGF-23, Ca, P
Powinowactwo do VDR	niskie	wysokie
Powinowactwo do DBP	wysokie	niskie

Pierwotne i wtórne deficyty i niedobory witaminy D

Przeprowadzone badania wykazały, że deficyty i niedobory witaminy D (stężenie $25(\text{OH})\text{D}$ poniżej 20 ng/ml) występują u 30% młodzieży oraz 70% kobiet po menopauzie w Polsce. Przyczynami niedoboru witaminy D u zdrowych są (Tabela 3.):

1. Obniżenie syntezy skórnej związane z:
 - a) szerokością geograficzną
 - b) stylem życia
 - c) używaniem filtrów UVB
 - d) procesami starzenia

2. Niedostateczna podaż witaminy D w pokarmach i suplementach żywności

Niedobór witaminy D towarzyszy także wielu chorobom (dysfunkcja wątroby i nerek, zespoły złego wchłaniania, otyłość, glukokortykosteroidoterapia, leczenie padaczki) (Tabela 2.), a nieleczony uniemożliwia osiągnięcie właściwego efektu terapii podstawowej tych schorzeń.

Ocena zaopatrzenia organizmu w witaminę D – kryteria niedoboru i deficytu

Do oceny stanu zaopatrzenia organizmu w witaminę D używa się parametru sta-

tycznego, jakim jest stężenie $25(\text{OH})\text{D}$ w surowicy, ale również parametrów dynamicznych, które umożliwią ocenę efektywności biologicznej witaminy D na poziomie ogólnoustrojowej homeostazy wapniowo-fosforanowej oraz lokalnych efektów na poziomie tkankowym. Do parametrów dynamicznych oceny zaopatrzenia organizmu w witaminę D zalicza się poziom PTH, poziomy markerów obrotu kostnego, optymalizację masy kostnej, optymalizację siły mięśniowej oraz obniżenie częstości wybranych schorzeń w badaniach populacyjnych. **Stosując analizę poziomu $25(\text{OH})\text{D}$ w surowicy względem parametrów dynamicznych**

ustalono, że dla wszystkich badanych wskaźników optymalne zaopatrzenia organizmu w witaminę D obserwowano powyżej stężenia 30 ng/ml $25(\text{OH})\text{D}$. Proponowaną terminologię oceny zaopatrzenia organizmu w witaminę D przedstawia Tabela 3. Właściwe stężenie $25(\text{OH})\text{D}$ w surowicy musi zapewniać nie tylko odpowiednią syntezę $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ w nerkach (istotna w regulacji homeostazy Ca-P), ale również syntezę tego metabolitu w innych tkankach wykazujących aktywność 1α -hydroksylazy witaminy D. Wykazano, że stężenie $25(\text{OH})\text{D}$ w zakresie 40–100 ng/ml optymalizuje gęstość mineralną kości, funkcje kończyn dolnych, zdrowie zębów, obniża ryzyko upadków, złamań kości oraz wystąpienia raka prostaty.

Problem biorównoważności witaminy D₂ i D₃

Istnieje wiele prac dokumentujących zasadnicze różnice w efektywności biologicznej witaminy D₂ i D₃ (Tabela 4.). Aktywność biologiczna witaminy D₂ jest trzykrotnie mniejsza od aktywności bio-

Tabela 2. Przyczyny i skutki deficytów witaminy D

Przyczyny deficytów witaminy D	
Przyczyna	Skutek
Obniżona synteza skórna 1. Stosowanie filtrów ochronnych pochłaniających UVB 2. Pigmentacja skóry – pochłanianie UB przez melaninę 3. Procesy starzenia – obniżenie zawartości 7-dehydrocholesterolu w skórze 4. Pora roku, szerokość geograficzna, pora dnia – liczba fotonów zależy od kąta padania promieni słonecznych	1. Obniżenie syntezy witaminy D – SPF 8 o 92% – SPF 15 o 99% 2. Obniżenie syntezy witaminy D o 99% 3. U osób >70 r.ż. obniżenie syntezy witaminy D o 75% 4. Powyżej 35 stopnia szerokości geograficznej północnej nie ma syntezy skórnej od listopada do lutego
Obniżenie biodostępności 1. Upośledzenie wchłaniania – mukowiscydoza, celiakia, choroba Whipple’a, choroba Crohna, terapie obniżające stężenie cholesterolu 2. Otyłość – wychwytywanie witaminy D przez tkankę tłuszczową	1. Upośledzenie wchłaniania witaminy D w jelicie 2. Obniżenie biodostępności witaminy D
Przyspieszony katabolizm 1. Terapie przeciwpadaczkowe, glukokortykosteroidoterapia, postępowania po przeszczepach, terapia AIDS	1. Aktywacja procesów katabolizmu 25(OH)D i 1,25(OH) ₂ D do nieaktywnego kwasu calcitriowego
Karmienie piersią 1. Niskie stężenie witaminy D w mleku człowieka	1. Zwiększone ryzyko niedoboru witaminy D u dzieci karmionych wyłącznie piersią
Obniżona synteza 25(OH) witaminy D 1. Upośledzenie funkcji wątroby a. umiarkowane b. upośledzenie funkcji wątroby >90%	1. a. Upośledzenie wchłaniania witaminy D, synteza 25(OH)D w normie b. brak syntezy 25(OH)D
Zwiększona utrata 25(OH)D z moczem 1. Zespół nerczycowy – utrata z moczem 25(OH)D związanej z DBP (białkiem wiążącym i transportującym calcidiol)	1. Obniżenie stężenia 25(OH) witaminy D
Przewlekła niewydolność nerek 1. Stadium 2 i 3 (filtracja kłębuszkowa 31–89 ml/min/1,73 m ²) – hiperfosfatemia zwiększa poziom FGF23, który hamuje aktywność 1- α -hydroksylazy nerkowej 2. Stadium 4 i 5 (filtracja kłębuszkowa < 30 ml/min/1,73 m ²)	1. Obniżone wydalenie fosforanów, spadek syntezy 1,25(OH) ₂ D 2. Hipokalcemia, wtórna nadczynność przytarczyc, spadek syntezy 1,25(OH) ₂ D
Choroby genetyczne 1. Krzywica typu I – mutacja genu kodującego 1- α -hydroksylazę witaminy D (CYP27B1) 2. Krzywica typu II – mutacja genu kodującego VDR 3. Krzywica typu III 4. Krzywice hipofosfatemiczne (autosomalnie dominujące) – mutacja w genie kodującym katabolizm FGF23 5. Krzywice hipofosfatemiczne sprzężone z chromosomem X – mutacja genu PHEX, podwyższenie poziomu FGF23	1. Upośledzenie syntezy 1,25(OH) ₂ D lub jej brak 2. Podwyższone stężenie 1,25(OH) ₂ D, częściowa lub całkowita oporność na 1,25(OH) ₂ D 3. Oporność tkanek docelowych na 1,25(OH) ₂ D 4. Obniżenie syntezy 1,25(OH) ₂ D 5. Obniżenie syntezy 1,25 (OH) ₂ D

Tabela 3. Sugerowana terminologia umożliwiająca określenie stanu zaopatrzenia organizmu w witaminę D na podstawie stężenia 25(OH)D w surowicy

	Stężenie 25(OH)D w surowicy		Symptomy biochemiczne/kliniczne
	nmol/l	ng/ml	
Deficyt	0–25	0–10	Ostry hiperparatyroidyzm, upośledzone wchłanianie wapnia, krzywica, osteomalacja, miopatia
Niedobór	>25–50	>10–20	Podwyższony poziom PTH, obniżone wchłanianie jelitowe wapnia, obniżona gęstość minerału kostnego, subkliniczna miopatia
Hipowitaminoza D	>50–75	>20–30	Niskie zasoby witaminy D w organizmie, nieznacznie podwyższony PTH
Poziom zalecany	70–200	30–80	Nie obserwuje się zaburzeń związanych z funkcją witaminy D w organizmie
Poziom toksyczny	>250	>100	Wzmoczone wchłanianie wapnia w jelitach, hiperkalcemia, hiperkalcuria

Tabela 4. Parametry aktywności biologicznej witaminy D₂ i D₃.

Parametr aktywności biologicznej	Witamina D ₂	Witamina D ₃
Powinowactwo do DBP metabolitu hydroksylovanego w pozycji 25	niskie	wysokie
Okres półtrwania metabolitu wątrobowego	krótki	długi
Powinowactwo do hydroksylazy wątrobowej	niskie	wysokie
Hydroksylacja w pozycji 24 przez hydroksylazy wątrobowe	tak	nie
Powinowactwo do VDR hydroksylovanych metabolitów	niskie	wysokie
Wchłanianie w jelicie	D ₂ =D ₃	D ₂ =D ₃

logicznej witaminy D₃. Jest to wynikiem różnic w powinowactwie do enzymów hydroksylujących w wątrobie (efekt przyspieszonego katabolizmu), słabszego wiązania aktywnych metabolitów do białka wiążącego w surowicy – DBP (efekt krótszego okresu półtrwania) oraz receptora komórkowego VDR.

Toksyczność witaminy D

Food and Nutrition Board w roku 1997 określił największą bezpieczną dawkę witaminy D (*Tolerable Upper Intake Level* – UL) jako 2000 IU. Analiza badań opublikowanych do roku 2007 określa tę wartość jako zbyt restrykcyjną i niezgodną z dostępnymi badaniami klinicznymi. Autorzy postulują UL dla witaminy D rzędu 10 000 IU (dawce równej ilości witaminy D syntetyzowanej podczas syntezy skórnej), a bezpieczne stężenie 25(OH)D w surowicy do 100 ng/ml. Opublikowano dotychczas 10 prac opisujących dobrze udokumentowane przypadki zatrucia witaminą D. U wszystkich pacjentów stężenie 25(OH)D wynosiło od 200 do 1480 ng/ml. W opisanym polskim przypadku 7-miesięcznego dziecka stężenie 25(OH)D przy pełnych objawach zatrucia wynosiło 400 ng/ml. Chociaż przeprowadzona analiza uwzględniła wszystkie procedury oceny zagrożenia stosowane przez Food and Nutrition Board, należy pamiętać, że dostępne dane z badań klinicznych nie uwzględniają wszystkich czynników, które należy wziąć pod uwagę. W większości badanych prac oceniano tylko hiperkalcemię a nie badano hiperkalcurii, która w efekcie długoterminowym

jest szczególnie niebezpieczna dla funkcji nerek.

Metodyka oznaczeń 25(OH)D

Oznaczanie 25(OH)D w surowicy jest procedurą trudną z trzech podstawowych przyczyn:

- 1) dużej hydrobowości 25(OH)D, co wiąże się z zagrożeniem interferencji licznych składników surowicy (tak zwany efekt macierzy),
- 2) występowaniem w surowicy zarówno pochodnych witaminy D₂ jak i D₃,
- 3) występowaniem w surowicy dzieci stereoizomeru 3-epi-25(OH)D₃.

Metody bezpośrednie i pośrednie

Metody oznaczeń 25(OH)D można podzielić na:

- 1) bezpośrednie – pomiar metodami fizykalnymi. „Złotym standardem” w oznaczaniu 25(OH)D w surowicy są pomiary bezpośrednie: metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) oraz spektrometrii masowej sprzężonej z chromatografią cieczową (LC-MS). Metody te mają możliwość oceny stężenia zarówno 25(OH)D₃ jak i 25(OH)D₂

- 2) pośrednie – wykorzystujące wiązanie 25(OH)D z białkami, takimi jak DBP (CPBA – *competitive protein binding assay*) czy przeciwciała (RIA – *radioimmunoassay*, ELISA – *enzyme-linked immunoassay*, ECL – *elektrochemiluminescence*).

Metody manualne i automatyczne

Liczne metody manualne to metody pośrednie wykorzystujące do oznaczeń bądź białko wiążące (CPBAs – *competitive protein binding assay* ze znacznikiem, którym jest trytowany metabolit), bądź metody radioimmunologiczne (RIA ze znacznikiem znakowanym jodem radioaktywnym lub wskaźnikiem chemiluminescencyjnym). W metodach tych występuje etap ekstrakcji surowicy poprzedzający właściwe oznaczenie.

Istotnym postępowaniem jest wprowadzenie w pełni automatycznych metod oznaczania poziomu 25(OH)D, opartych na technologii immunochemiluminescencyjnej, które rokuje duże nadzieje odnośnie poprawy wiarygodności analitycznej tego parametru klinicznego. System automatyczny europejski (Roche Diagnostics) oznacza wyłącznie 25(OH)D₃, a system amerykański (LIAISON) 25(OH)D₂ i 25(OH)D₃. Metodami tymi oznacza się stężenie 25(OH)D bezpośrednio w surowicy, bez wstępnego etapu oczyszczania. W tym przypadku należy zwrócić uwagę na możliwość wystąpienia opisanego uprzednio efektu macierzy.

Metody referencyjne w oznaczeniach 25(OH)D

Istnieją trzy metody referencyjne (tzw. „złote standardy”) w oznaczeniach 25(OH)D:

1. GC-MS
2. HPLC
3. ALTM (*All laboratory trimmed mean*)

Tabela 5. Stężenie 25(OH)D oznaczane różnymi metodami w populacjach dzieci i dorosłych

Metoda oznaczeń	Poziom 25(OH)D	Piśmiennictwo
HPLC	9,1–23,9 ng/ml (zima)	Jones (1978)
RIA	9,9–41,5 ng/ml	Hollis (1997)
CLIA	9,5–52,0 ng/ml	Hollis (2005)
DBP	11–56 ng/ml (dzieci)	Prószyńska (1987)
ECL	5–56 ng/ml (kobiety po menopauzie)	Karczmarewicz (2006)

Kontrola jakości w badaniach 25(OH)D

Wewnętrzna kontrola laboratoryjna

Codzienna wewnętrzna kontrola laboratoryjna jest niezbędnym elementem kontroli jakości w badaniach 25(OH)D. Postępowanie to jest szczególnie istotne w przypadku metod manualnych obarczonych największym błędem ze strony analityka. Jako wewnętrzną kontrolę laboratoryjną stosuje się w tym przypadku odpowiednio przygotowane surowice zlewkowe.

Metody automatyczne posiadają własne zestawy próbek kontrolnych, które stosuje się zgodnie z zaleceniami producenta, najczęściej jako kontrolę codzienną lub co najmniej z każdym nowym zestawem oznaczeniowym i w przypadku kalibracji aparatu.

Kontrola zewnętrzna – DEQAS

(The International External Quality Assessment Scheme for Vitamin D Metabolites)

Analizy międzynarodowego systemu kontroli jakości oznaczeń metabolitów witaminy D DEQAS (*The International External Quality Assessment Scheme for Vitamin D Metabolites*) wykazały, że:

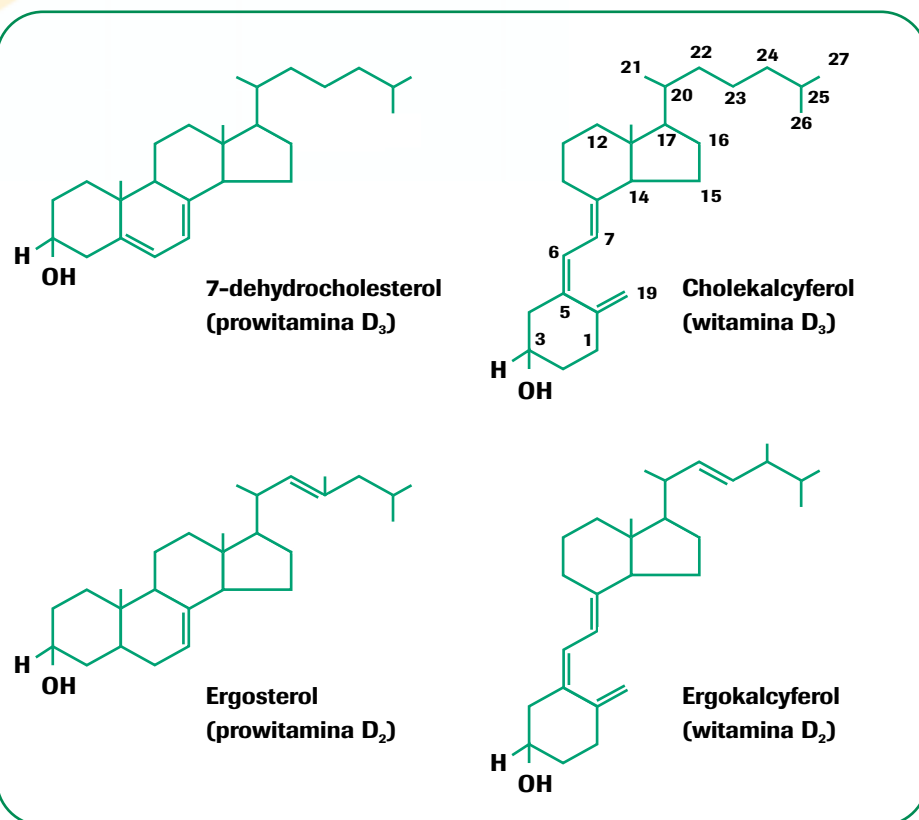
- 1) metody radioreceptorowe dwukrotnie zawyżają rzeczywiste stężenie 25(OH)D w surowicy
- 2) metody manualne obarczone są wysokim błędem zależnym od kompetencji osoby wykonującej analizę
- 3) metody radioimmunologiczne mają różną specyficzność względem pochodnych witaminy D₂ i D₃.

Stężenie 25(OH)D w różnych populacjach

Stężenie 25(OH)D w różnych populacjach oznaczane odmiennymi metodami mieszczą się w zakresie od 9 do 56 ng/ml (Tabela 5.), przy czym w zimie górna granica obniża się do 24 ng/ml.

Podsumowanie

Zaleca się wszystkim laboratoriom oznaczającym 25(OH)D uczestniczenie w międzynarodowym systemie kontroli jakości DEQAS, gdzie wyniki badań porównywane są względem złotych standardów: ALTM, HPLC i LC-MS. Tylko badania z takich laboratoriów będą publikowane.



Rysunek 1. Wzory witamin D₂ i D₃ oraz ich prekursorów.

Elecsys Vitamin D₃ (25-OH)

Ilościowe oznaczanie 25-hydroksy witaminy D₃

materiał: surowica lub osocze (EDTA, heparyna)

czas oznaczania: 18 min.

zakres pomiarowy: 4,0–100,0 ng/ml
10,0–250,0 pmol/L

Aplikacje do oznaczania na analizatorach:

Elecsys 2010, Modular E170

cobas® 6000, cobas e 601, cobas e 411

Wysoka swoistość testu Elecsys Vitamin D₃ (25-OH):
zminimalizowanie reakcji krzyżowych z witaminą D₂

Nr kat. 03314847190, **Elecsys Vitamin D₃ (25-OH)** (100 oznaczeń)
Nr kat. 03314855190, **Elecsys Vitamin D₃ (25-OH) CalSet** (4 x 1,0 ml)
Nr kat. 11972227122, **Elecsys PreciControl Bone** (6 x 2,0 ml)

Test już dostępny w sprzedaży!!!

Zastosowanie szybkiej diagnostyki NT-proBNP w kardiologii – nowe perspektywy dla klinicystów

Grzegorz Suwalski, Klinika Kardiologii I-szej Katedry i Kliniki Kardiologii AM w Warszawie

Wprowadzenie – wyniki najnowszych badań nad NT-proBNP w praktyce klinicznej

Sposoby oceny obciążenia komór i stopnia niewydolności serca w grupie pacjentów z chorobami układu krążenia w ostatnich kilku latach skierowały się zdecydowanie w stronę nieinwazyjnych i szybkich pomiarów ilościowych wybranych molekuł w osoczu. Obecnie jednym z najlepiej poznanych i szeroko stosowanych w kardiologii jest N-końcowy fragment propeptydu natriuretycznego B (NT-proBNP). Synteza całej rodziny peptydów natriuretycznych związana jest z obciążeniem wstępnym jak i następczym serca. W warunkach przeciążenia objętościowego komór serca dochodzi do zwiększonej syntezy BNP, co uruchamia złożone procesy mające na celu wzrost wydalania sodu, a co za tym idzie wody z łóżyska naczyniowego. Wydaje się, że dobrze potwierdzone sprzężenie między napięciem ścian jam serca a stężeniem osoczym NT-proBNP wskazuje na ten marker jako klinicznie przydatny¹.

I faktycznie jest tak, że coraz to nowsze doniesienia naukowe wskazują na zastosowanie oznaczeń NT-proBNP w prognozowaniu niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych w kolejnych grupach pacjentów z niewydolnością serca, chorobą niedokrwienną serca, ostrymi zespołami wieńcowymi itd. Coraz szerzej próbuje się stosować taktykę optymalizacji terapii na podstawie oznaczeń NT-proBNP (tzw. BNP-guided therapy)².

Co otworzyło nowe perspektywy dla analiz NT-proBNP w kardiologii?

Technologia oznaczeń stężenia peptydu w osoczu ulega stałym uproszczeniom i zastępuje niegdyś trudne do wykonania badania łatwymi, szybkimi i obciążonymi małym ryzykiem błędu ludzkiego. W przypadku NT-proBNP, CRP, IL-6 czy

kilku innych markerów mamy na rynku dostępne urządzenia i testy do szybkiej analizy przyłóżkowej. Analizatory Cardiac reader i **cobas[®] h 232** firmy Roche posiadają możliwość wykonania ilościowego oznaczenia: NT-proBNP, Troponiny T, Mioglobiny, D-Dimeru i CK-MB masy. Zbliża to zaawansowaną i nowoczesną ocenę NT-proBNP do praktyki klinicznej.

W ośrodkach kardiologicznych na całym świecie największą grupę stanowią pacjenci kierowani do chirurgicznego leczenia choroby wieńcowej (pomostowanie tętnic wieńcowych) oraz osoby z zastawkowymi wadami serca (zastawki aortalna, mitralna), gdzie wykonywane są zabiegi chirurgicznej wymiany lub naprawy (plastyki) zastawki. Dużą grupę pacjentów stanowią osoby z niewydolnością serca, chorzy po przeżytym zawale serca, z licznymi obciążeniami, które mają istotny wpływ na rokowanie wczesne i odległe. I tutaj kolejne narzędzie szybkiej, nieinwazyjnej oceny wydolności serca i obciążenia układu krążenia może przyczynić się do potencjalnej poprawy wyników w postępowaniu kardiologicznym.



Cardiac reader

Kwalifikacja do operacji

W pierwszym etapie kwalifikacji chorego do jakiegokolwiek interwencji kardiologicznej określane jest ryzyko proce-

dury według europejskiego systemu Euroscore Logistics. W grupie ocenianych parametrów bierze się pod uwagę również te opisujące wydolność serca i obciążenie układu krążenia – frakcję wyrzutową lewej komory, ciśnienie w tętnicy płucnej. Ocena tych parametrów wymaga wykonania echokardiografii i cewnikowania tętnicy płucnej (cewnik Swan-Ganza). Istnienie korelacji między frakcją wyrzutową lewej komory, ciśnieniem w tętnicy płucnej oraz ciśnieniem zaklinowania kapilar płucnych a stężeniem NT-proBNP, wskazuje na ten peptyd jako przydatne narzędzie w kwalifikacji chorych do operacji i ocenie ryzyka powikłań wczesnych. Z naszych wstępnych obserwacji wynika, że NT-proBNP oznaczane przedoperacyjnie ma potencjał czulszego narzędzia niż echokardiografia. Operowano w naszym ośrodku bowiem pacjentów, u których nie stwierdzono obniżenia frakcji wyrzutowej lewej komory poniżej 50%, a dopiero po znieczuleniu pacjenta i wykonaniu pomiarów hemodynamicznych mieliśmy przed oczami obraz niewydolności serca. Zmierzone wtedy stężenie NT-proBNP wynosiło ponad 1000 pg/ml.

Kolejnym ważnym klinicznie zastosowaniem prostej oceny ilościowej NT-proBNP jest możliwość wyboru najlepszego momentu na poddanie pacjenta ciężkiej operacji kardiologicznej (np. wymianie zastawki aortalnej). Dzięki temu, że stężenia NT-proBNP mogą zmieniać się istotnie nawet w odstępie kilkunastu lub kilkudziesięciu godzin, bez istotnych zmian w echokardiografii, możliwe jest optymalizowanie wyrównania przedoperacyjnej niewydolności serca wynikającej z trwającej od dłuższego czasu objawowej wady zastawkowej. Wiadomo bowiem, że operowanie w okresie destabilizacji niewydolności serca wiąże się z więk-

szą liczbą powikłań w okresie wczesnym, bowiem dołożenie do obrazu patofizjologicznego takich czynników obciążających jak krążenie pozaustrojowe, kardioplegia (zatrzymanie akcji serca), głębokie znieczulenie, zastosowanie amin katecholowych, sztuczna wentylacja, oraz sama zmiana warunków hemodynamicznych po wymianie lub naprawie zastawki serca, może zdekompensować układ krążenia we wczesnym okresie pooperacyjnym i doprowadzić do rozwinięcia zespołu małego rzutu. Być może wykorzystanie czasu przed operacją na ustalenie optymalnego wypełnienia łóżyska naczyniowego (często odwodnienie pacjenta), zwiększenie dawek leków beta-adrenolitycznych, czy nawet czasowe zastosowanie kontrapulsacji wewnątrzaoortnej, tak by doprowadzić do istotnego obniżenia NT-proBNP, pomoże poprawić wyniki wczesne, szczególnie w grupie najcięższych chorych.

W naszym ośrodku prowadząc przedoperacyjną ocenę chorych uwzględniającą pomiar NT-proBNP widzimy osoby kierowane z wadą zastawkową serca z różnymi wartościami stężenia tego prohormonu. Zawsze jednak przekraczają one stężenia 300–350 pg/ml, co należy zaakceptować, ponieważ są to osoby z niewydolnością serca przebiegającą na podłożu wady serca. Populacja ta nie była nigdy pod tym kątem oceniana w badaniach klinicznych. Stąd też ważna jest współpraca z kolegami kardiologami kwalifikującymi do operacji. Być może z ich strony szersze zastosowanie NT-proBNP nie każe czekać na rozwinięcie objawów wady, lecz pozwoli wcześniej, z mniejszym ryzykiem skierować pacjenta do chirurgicznego leczenia wady zastawkowej serca.

Ocena okołoperacyjna

Przyłóżkowy i prosty w wykonaniu pomiar NT-proBNP z krwi pełnej heparynizowanej przy zastosowaniu analizatora Cardiac reader, lub **cobas® h 232** sprawdza się w warunkach intensywnej terapii pooperacyjnej. Prowadzone w Klinice prace mają na celu określenie profilu zmian stężenia NT-proBNP w kolejnych wczesnych dobach po operacji kardiochi-

rurgicznej. Oceniana jest korelacja syntezy NT-proBNP z inwazyjnymi metodami pomiaru obciążenia serca – ośrodkowym ciśnieniem żylnym, ciśnieniem zaklinowania w tętnicy płucnej, rzutem minutowym serca czy średnim ciśnieniem tętniczym. Być może NT-proBNP okaże się prostym narzędziem oceny optymalnego prowadzenia wypełnienia łóżyska naczyniowego jak i wskazań do włączenia amin katecholowych. Wzrost NT-proBNP może wyprzedzać rozwinięcie zespołu małego rzutu, co pozwoliłoby na szybszą reakcję i zastosowanie między innymi mechanicznych metod wspomagania krążenia np. kontrapulsacji wewnątrzaoortnej.

Nasze wstępne obserwacje pokazują, iż zmiany stężenia NT-proBNP po operacji serca niekoniecznie muszą odpowiadać naszym wyobrażeniom. I tak spotykamy się zarówno z bardzo wysokimi wartościami w odległych dobach jak i ze znaczną redukcją syntezy NT-proBNP kilka godzin po operacji.



cobas h 232

Odległe monitorowanie – po operacjach zastawkowych i ablacji migotania przedsionków

Trzecim elementem prac badawczych prowadzonych w Klinice Kardiologii i Klinice Kardiologii AM w Warszawie jest odległa ocena (wieloletnia) wyników chirurgicznego leczenia chorób serca.

Prowadzony w Klinice od wielu lat prospektywny rejestr chorych poddanych chirurgicznej ablacji migotania przedsionków obejmuje wizyty kontrolne co

3–6 miesięcy po operacji, podczas których przeprowadzamy badania echokardiograficzne i 24-godzinne badania Holtera. Teraz poszerzyliśmy rejestr o ocenę odległych zmian stężenia NT-proBNP w aspekcie utrzymania rytmu zatokowego lub migotania przedsionków.

Ciekawym ambulatoryjnym zastosowaniem jest określanie zmian NT-proBNP w kolejnych miesiącach i latach po wymianie zastawki serca. Dobrze dobrana proteza aortalna powinna zmniejszać obciążenie następcze serca i umożliwiać regresję przerostu mięśniówki (remodeling wsteczny). Prawdopodobnie jednak najsilniejszym czynnikiem pooperacyjnych zmian stężenia NT-proBNP będzie jego przedoperacyjna wartość określająca wyjściowe uszkodzenie miocardium.

Podsumowanie

Badania kliniczne przeprowadzane ostatnimi laty w populacjach pacjentów kardiologicznych pokazują szeroką przydatność kliniczną pomiaru NT-proBNP zarówno w ocenie ryzyka jak i monitorowaniu leczenia. Z kolei łatwość i szybkość nowych systemów przyłóżkowych umożliwiają sprawne wkroczenie analizy NT-proBNP do ośrodków kardiologicznych. Początkowe dane zachęcają do prowadzenia dalszych badań nad użytecznością oceny NT-proBNP w kwalifikacji chorych, terapii pooperacyjnej i odległym monitorowaniu wyników.

Piśmiennictwo:

- 1 Shah MR, Hasselblad V, Tasissa G, et al.: *Rapid Assay Brain Natriuretic Peptide and Troponin I in Patients Hospitalized With Decompensated Heart Failure (from the Evaluation Study of Congestive Heart Failure and Pulmonary Artery Catheterization Effectiveness Trial)*. *Am J Cardiol*. 2007; 100:1427-33.
- 2 Alter P, Rupp H, Rominger MB, Vollrath A, et al.: *Relation of B-type natriuretic peptide to left ventricular wall stress as assessed by cardiac magnetic resonance imaging in patients with dilated cardiomyopathy*. *Can J Physiol Pharmacol*. 2007; 85:790-799.

cobas® c 111 w małym laboratorium

Katarzyna Strawa, Kierownik Laboratorium Diagnostycznego FET – Kraśnik SA.

W pierwszym półroczu firma Roche Diagnostics Polska wychodząc na przeciw oczekiwaniom średnich i małych laboratoriów, wprowadziła na polski rynek nowy automatyczny analizator biochemiczny **cobas® c 111** z wbudowanym modulem ISE.

W naszym laboratorium analizator **cobas c 111** pracuje od przeszło sześciu miesięcy. Jako przykładowa przychodnia świadczymy usługi nie tylko w zakresie medycyny pracy, ale także obsługujemy 9-tygodniowy POZ oraz specjalistykę, wykonując oznaczenia w 50–70 próbkach dziennie w ośmiogodzinnym systemie pracy.

Od pierwszych dni nowy analizator nie stwarzał nam najmniejszych problemów zarówno technicznych, jak i tych związanych z jego obsługą.

Zastosowane przez producenta, bardzo dobre oprogramowanie operatorskie (również w języku polskim) pozwoliło pracownikom laboratorium błyskawicznie wdrożyć się do rutynowej pracy.

Aparat ten ma wbudowany kolorowy, dotykowy monitor LCD, którego menu główne jest bardzo przejrzyste i ułożone w logiczny sposób tak, że dostęp do poszczególnych jego zakładek jest dziecinnie prosty.

Wszystkie sygnalizowane automatycznie czynności obsługowo-konserwacyjne, niezbędne do szybkiego przygotowania analizatora do pracy, zawierają krótkie, proste instrukcje wyświetlane na ekranie. Znacznie ułatwia to nie tylko ich wykonanie, ale jest również bardzo przydatne do skrupulatnego prowadzenia dokumentacji systemu jakości.

Jak przystało na dobrej klasy analizator, w **cobas c 111** znajduje się 27 pozycyjny, chłodzony dysk odczynnikowy. Pomysłodawcy zadbałi w nim o możliwość użycia w codziennej pracy do 8 takich dysków. Jest to niezwykle pomocne w sprawnej organizacji pracy, umożliwiając zestawianie różnych paneli badań na poszczególnych wymiennych dyskach, w zależności od indywidualnych potrzeb każdego laboratorium.

Zastosowano również jednorazowe kuwety pomiarowe ułożone po 10 sztuk w segmentach. Gwarantuje to nie tylko sprawną wymianę zużytych kuwet na nowe, ale przede wszystkim wysoką jakość otrzymanych wyników badań.

Kontrowersyjnie postrzegana na początku przeze mnie ośmiopozycyjna taca na próbki badane, wbrew pozorom, nie stanowi żadnego ograniczenia. Stały dostęp do wszystkich znajdujących się na tacy próbek badanych oraz możliwość ciągłego monitorowania ich statusu sprawia, że po automatycznym pobraniu materiału z danej próbki jest ona uwalniana.

Pozwala to nam na płynną wymianę pobranych do analizy próbek na następne. Takie rozwiązanie znacznie skraca nam czas oczekiwania na końcowe wyniki wszystkich badań.

Bardzo praktycznym rozwiązaniem zastosowanym w tym niewielkim urządzeniu jest możliwość używania zarówno probówek pierwotnych zamkniętego systemu pobierania krwi, jak również naczynek wtórnych na próbki w postaci kubeczków (*cups*) lub małych kubeczków (*mikrocups*). Jest to niezbędne i bardzo

pomocne w sytuacji testu wykonywanego przy użyciu mikrometody.

Dostępna jest również funkcja wykrywania pęcherzyków powietrza w próbkach badanych. Wszelkie nieprawidłowości wyświetlane są na ekranie monitora, w postaci komunikatów o błędach, z bardzo krótką instrukcją umożliwiającą ich usunięcie przez operatora.

Analizator ten, z pozoru niewielki, ma szereg innych, bardzo funkcjonalnych możliwości jak, np.: możliwość rozcieńczenia patologicznych próbek w stosunku 1:1 lub 1:10 i automatycznego przeliczenia otrzymanego z rozcieńczenia wyniku, czy możliwość szybkiej analizy próbek *cito*.

Bardzo czytelne i proste menu pozwala nam równocześnie monitorować liczbę wolnych kuwet reakcyjnych, zasobności pokładu odczynnikowego z możliwością wglądu we wszystkie dane poszczególnych odczynników na aktualnie załadowanym dysku, łącznie z ich serią, datą ważności oraz liczbą dostępnych testów.

W analizatorze **cobas c 111** mamy też możliwość monitorowania temperatury chłodzenia dysku odczynnikowego, jak i temperatury rotora reakcyjnego.



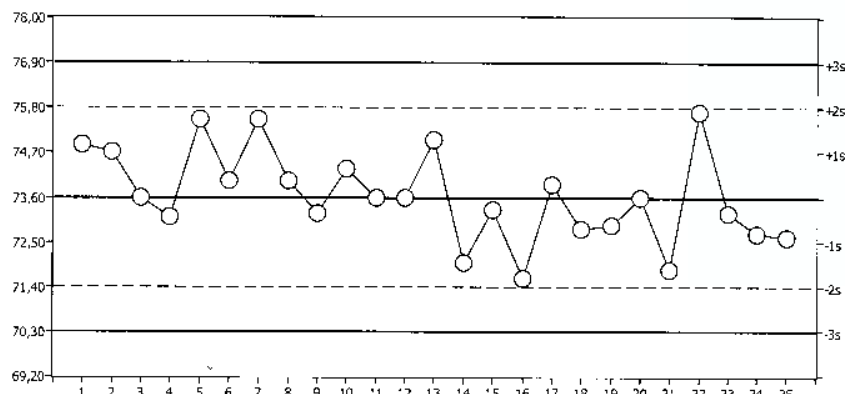
cobas c 111

Karta graficzna kontroli precyzji – odtwarzalność

Okres przygotowawczy

Amylaza w surowicy / Cobas C111 - AMYL2 [U/l]

Okres przygotowawczy: 24-05-2007 — 21-09-2007
Procedura badawcza: -
Parametr / metoda / jednostka: Amylaza w surowicy / Cobas C111 - AMYL2 / U/l
Materiał kontrolny: Precinorm U / 176469-01



Opracowanie statystyczne			Sprawdził / Zatwierdził:
	Przyjęte wartości należne	Wartości uzyskane	
n:	n.d.	25	
$\bar{x}$:	n.d.	73,6	
s:	n.d.	1,1	
wz:	4,3%	1,5%	

Należy podkreślić, że tak jak w innych analizatorach wysokiej klasy, tak i w analizatorze **cobas c 111** kalibracja jest zainstalowana na pojemniku odczynnikowym w postaci kodu kreskowego. Po zeskanowaniu i załadowaniu odczynnika na pokład, użytkownik dokonuje jedynie rekalkulacji testu w czasie zalecanym przez producenta lub na własne życzenie.

Kalibrowanie bezobsługowych elektrod jonoselektywnych odbywa się automatycznie, co 5 godzin, jak również na życzenie użytkownika.

Zgodnie z obowiązującymi wymogami analizator **cobas c 111** ma wbudowaną wewnętrzną kontrolę jakości. Moduł ten pozwala na automatyczną ocenę wyników kontroli w czasie rzeczywistym w odniesieniu do precyzji i dokładności metody. Udokumentowaniem wysokiej jakości otrzymywanych na analizatorze **cobas c 111** wyników są dołączone zarówno wykresy kontrolne w postaci kart Levey-Jenninga, jak i kart oceny precyzji metody.

O dużej funkcjonalności oraz ograniczeniu do minimum wszelkich czynności obsługowych analizatora **cobas c 111**,

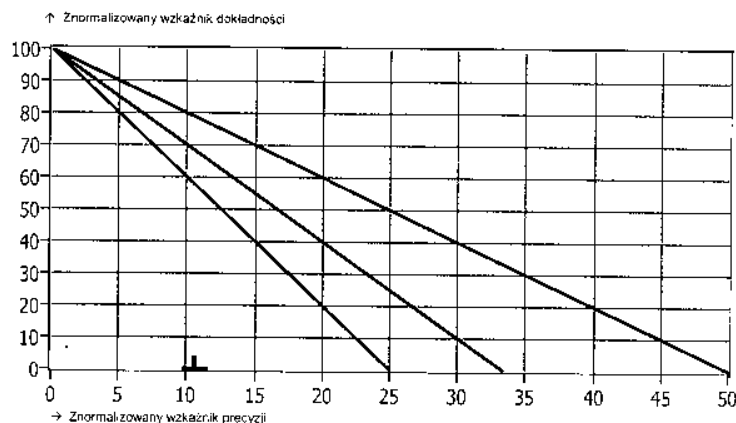
Analiza precyzji

24-05-2007 - 21-09-2007

Amylaza w surowicy [U/l]

Precinorm U

Cobas C111 - AMYL2



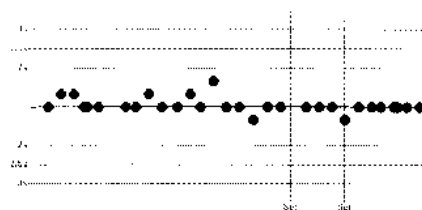
Wartość nominalna	73,6 U/l
Dopuszczalny błąd całkowity (TEK)	14,1%
Średnia	73,6 U/l
Odchylenie standardowe (SD)	1,1 U/l
Wskaźnik precyzji (CV)	1,50%
Wskaźnik dokładności (%)	0,00%
Znormalizowany wskaźnik precyzji (CV)	10,60%
Znormalizowany wskaźnik dokładności (%)	0,00%

Ocena metody

Bardzo dobra

c111 V1.0.2.0705 50175
admin 31.10.2007 12:15

Szczegóły QC [CH02A - PNU - 10/07]:



Data	mg/dl	Znacznik
02.10. 12:22	92,49	
03.10. 12:40	92,19	
04.10. 13:05	92,34	
05.10. 08:55	93,16	
05.10. 13:23	93,53	
06.10. 11:55	94,77	
08.10. 13:41	93,72	
09.10. 08:01	94,41	
10.10. 08:26	95,52	
11.10. 08:48	93,67	
12.10. 13:27	93,03	
13.10. 14:51	92,41	
14.10. 08:15	95,20	
15.10. 08:42	93,44	
16.10. 09:04	94,61	
17.10. 09:35	94,64	
18.10. 11:58	90,57	
19.10. 12:28	93,69	
20.10. 13:00	91,12	
21.10. 09:42	Zestaw odczynnikowy	
22.10. 13:24	91,81	

Przykładowy wydruk kontroli jakości dla testu CHOL

świadczyć może również fakt, że wszystkie funkcje myjące są tu wykonywane automatycznie stosownie do liczby zadanych testów, za pomocą odczynnika ze zbiornika zewnętrznego. Również na pokładzie odczynnikowym znajduje się jeden z odczynników myjących przeznaczony do intensywnego płukania igły w dodatkowym automatycznym cyklu mycia.

Analizator **cobas® c 111** ma również możliwość podłączenia do komputera zewnętrznego i dwukierunkowej współpracy z systemem informatycznym. Programowanie analizatora jest całkowicie zastąpione informacjami wprowadzanymi do programu CENTRUM firmy Marcel. Rejestracja zleceń w tym programie może następować ręcznie lub automatycznie, poprzez odbiór zleceń z innego systemu,

np. bezpośrednio z oddziałów szpitalnych. System, elastyczny w konfiguracji, pozwala na zastosowanie różnych procedur – kody kreskowe próbek można zastąpić numerami pozycji listy roboczej, tworzonej automatycznie. Po wstawieniu próbek do analizatora wystarczy wpisać (ręcznie) w analizatorze ich numer, i dalsza procedura przebiega już samoczynnie.

Odebrane wyniki z analizatora opatrzone są przez program jednostkami, wartościami referencyjnymi i przedstawiane do autoryzacji operatorowi. Po ewentualnych poprawkach czy powtórkach zaakceptowane wyniki są drukowane lub odsyłane do innego systemu informatycznego.

Ponadto program automatycznie archiwizuje dane, prowadzi i drukuje księgę pracowni oraz tworzy pełne statystyki rozlicze-

niowe za zadany okres czasu o praktycznie nieograniczonych możliwościach podziału i precyzyjnego wyboru żądanych danych.

Na podstawie dotychczasowej pracy na analizatorze **cobas c 111**, z całą odpowiedzialnością chce podkreślić, że spełnia on wszelkie nasze oczekiwania pod kątem funkcjonalności i praktyczności. Jego niezawodność, bezawaryjność oraz banalnie prosta obsługa, stawia go naszym zdaniem na pierwszym miejscu wśród dostępnych na rynku automatycznych analizatorów biochemicznych dedykowanych średnim i małym laboratoriom medycznym.

Jednocześnie możliwość pracy na wysokiej jakości odczynnikach, kalibratorach i materiałach kontrolnych firmy Roche, gwarantuje wysoką jakość wszystkich otrzymywanych wyników.

Oznaczanie szybkości reakcji sedymentacji we krwi przy użyciu systemu TEST 1 – porównanie z metodą Sedimatic 100, turbidymetryczną metodą oznaczania poziomu fibrynogenu oraz wpływ białek monoklonalnych

Nasser E. Ajubi, Andries J. Bakker i Gita A. van den Berg, Stichting KCL,
Department of Clinical Chemistry, Leeuwarden, Holandia

Streszczenie

Wstęp: Oznaczanie szybkości reakcji sedymentacji we krwi (*length of sedimentation reaction in blood*, LSRB) jest często używane w codziennej praktyce medycznej do oceny aktywności chorób. Ostatnio wprowadzono metodę mikrosedymentacji (TEST 1™), w której używa się próbek krwi antykoagulowane EDTA. Celem niniejszej pracy była charakterystyka tej metody poprzez porównanie jej z konwencjonalną metodą Westergrena (Sedimatic 100). Ponadto badano zależność pomiędzy fibrynogenem a LSRB oraz wpływ białek M na wynik LSRB.

Metody: Do porównania pomiędzy metodami TEST 1 i Sedimatic 100 użyto losowo wybrane pary próbek (n=733); fibrynogen mierzono w próbkach z EDTA (n=765) metodą turbidymetryczną. Ponadto mierzono LSRB w 29 próbkach z EDTA w parach próbek z surowicą od pacjentów, u których wykryto białko M.

Wyniki: System TEST 1 wykazał doskonałą korelację z metodą Sedimatic 100 ($y=1,00x$; $n=733$; $r=0,92$, 95% CI od 0,90 do 0,93; $p<0,0001$) i brak znaczącego odchylenia (0,15 mm/h, 95% CI od 0,48 do 0,75 mm/h). Ponadto wyniki LSRB oznaczane

w TEST 1 dały zadowalającą korelację z zawartością fibrynogenu ($y=3,13+0,06x$; $n=765$; $r=0,78$, 95% CI od 0,75 do 0,80; $p<0,0001$). W próbkach zawierających białko M stwierdzono zadowalającą korelację pomiędzy zawartością białka M a LSRB mierzonym w TEST 1 ($y=0,69+0,22x$; $n=29$; $r=0,71$, 95% CI od 0,45 do 0,85; $p<0,0001$), natomiast doskonałą korelację, kiedy brano pod uwagę jedynie białko M klasy IgM ($y=-0,95+0,23x$; $n=9$; $r=0,93$, 95% CI od 0,71 do 0,99; $p<0,0002$).

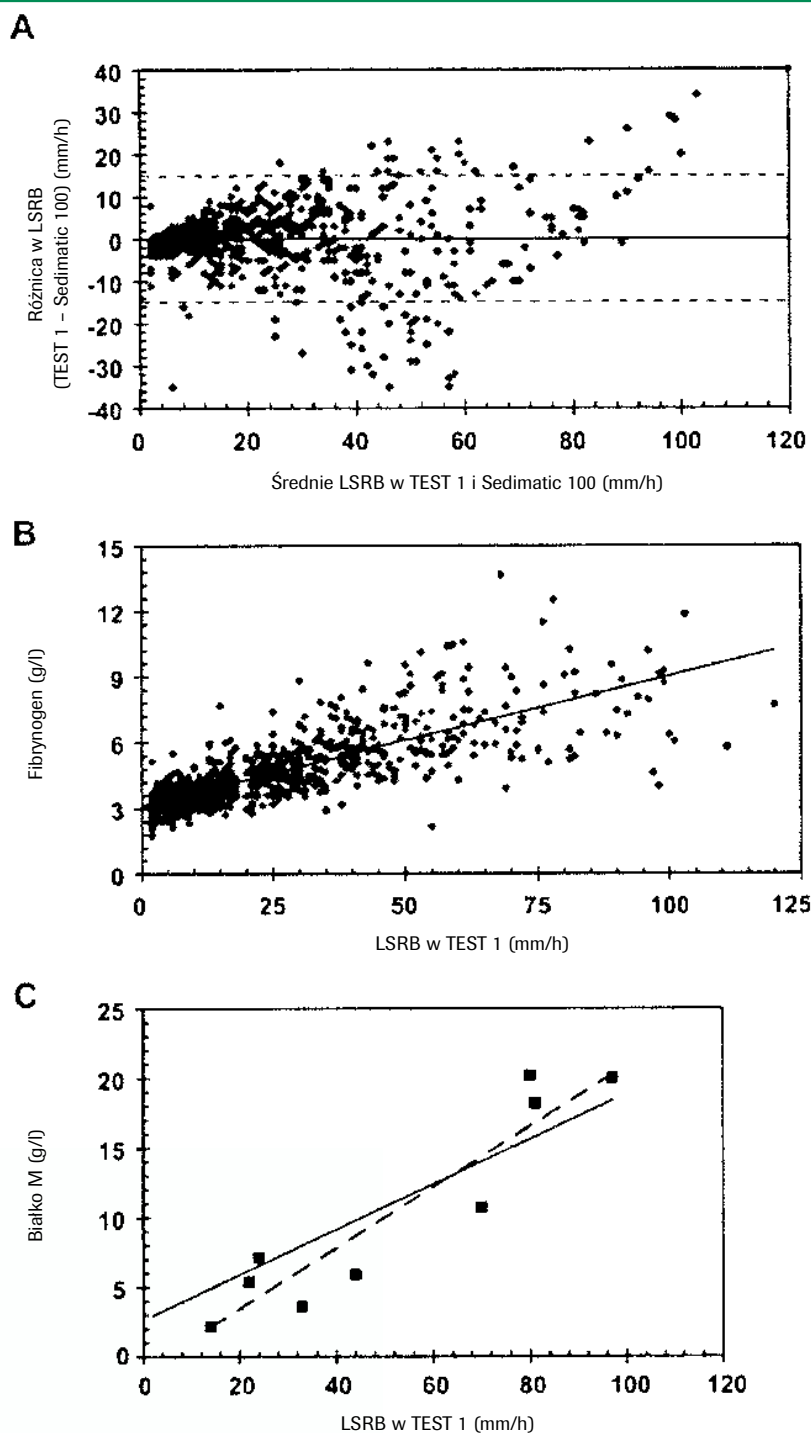
Wnioski: Wyniki potwierdzają wcześniejsze doniesienia, że TEST 1 jest rzetelną me-

tołą pomiaru LSRB i po raz pierwszy wykazują ilościową zależność pomiędzy LSRB w TEST 1 a białkami M, szczególnie klasy IgM. Clin Chem Lab Med 2006; 44:904-6.

Słowa kluczowe: fibrynogen; długość reakcji sedymentacji we krwi; białka M; choroby reumatologiczne; TEST 1; metoda Westergrena.

Oznaczanie szybkości reakcji sedymentacji we krwi (*length of sedimentation reaction in blood*, LSRB) jest proste, niedrogi i często stosowane w codziennej praktyce medycznej. Metoda Westergrena, która długo była jedyną dostępną techniką oznaczenia LSRB, nadal uznawana jest za metodę referencyjną, jeśli wykonywana jest zgodnie z wytycznymi Międzynarodowej Rady ds. Standardyzacji w Hematologii (*International Committee for Standardization in Haematology*, ICSH)¹. Jakikolwiek stan powodujący wzrost stężenia fibrynogenu (np. ciąża, cukrzyca, schyłkowa niewydolność nerek, choroba serca, układowe zapalne choroby tkanki łącznej oraz nowotwory) może zwiększyć wartość LSRB²⁻⁴. Ponadto naładowane dodatnio cząsteczki takie jak białka monoklonalne, które obecne są przy szpiczaku mnogim lub makroglobulinemii Waldenstroma, zwiększają LSRB poprzez przyspieszanie tworzenia rulonów przez erytrocyty. Mimo że istnieje duża liczba publikacji na temat LSRB, jego podwyższona wartość pozostaje wynikiem mało swoistym⁵. Jednakże pomiar LSRB nadal uważany jest za metodę z wyboru do monitorowania chorób reumatycznych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów i reumatyczny ból wielomięśniowy (*polymyalgia rheumatica*)².

Ostatnio wprowadzono bardzo szybką metodę mikrosedymentacji LSRB (TEST 1, SIRE Analytical Systems, Udine, Włochy), w której używa się standardowe próbki krwi antykoagulowanej EDTA. System ten oceniano dogłębnie we wcześniejszych badaniach; wykazuje on dobrą korelację z metodami zalecanymi przez ICSH, stężeniami fibrynogenu (oznaczanymi metodą opartą na pomiarze czasu protrombinowego) oraz okazuje się, że hematokryt nie ma wpływu na wyniki⁶⁻⁹. W niniejszym badaniu ocenialiśmy system TEST 1 do



Rycina 1. Wykresy przedstawiające różnicę pomiędzy wartościami LSRB dla metod TEST 1 i Sedimatic 100 (A), korelację LSRB TEST 1 z zawartością fibrynogenu (B) oraz stężeniem białka monoklonalnego (C). Fibrynogen mierzono (w osoczu z EDTA) w systemie Modular P800 (Roche Diagnostics, Mannheim, Niemcy) przy użyciu metody turbidymetrycznej¹⁰. Białka monoklonalne wykrywano przy pomocy elektroforezy surowicy w systemie SPIFE 2000 (Helena Biosciences Europe, Gateshead, Wlk. Bryt.) z następującą immunofiksacją przy użyciu odpowiednich przeciwciał przeciw immunoglobulinom (SPIFE IFE-9 kit, Helena Biosciences Europe). Analizę statystyczną wykonano w programach MS Excel '98 (Microsoft(tm), Redmond, WA, USA) and Analyse-It (Analyse-It Software Ltd., Leeds, UK). (A) Linie poziome (przerwane) określają granice zgodności (od 17,0 do 16,9 mm/h). Średnie odchylenie -0,15 mm/h (95% CI - od 0,48 do 0,75 mm/h). (B) Krzywa regresji przedstawiająca korelację ($y=3,13 + 0,06x$; $n=765$; $r=0,78$, 95% CI - od 0,75 do 0,80; $p<0,0001$) pomiędzy wynikami LSRB TEST 1 (oś x) i zawartością fibrynogenu (oś y). (C) Krzywa regresji przedstawiająca korelację ($r=0,71$; $n=29$, $p<0,0001$, linia ciągła, koła i kwadraty) pomiędzy wynikami LSRB TEST 1 (oś x) i stężeniem białka monoklonalnego (oś y). Linia przerywana (---) przedstawia linię korelacji pomiędzy LSRB w TEST 1 i stężeniem białka M IgM ($r=0,93$; $n=9$, $p<0,0002$, kwadraty).

oznaczania LSRB. Najpierw porównaliśmy wartości LSRB z analizatora TEST 1 z wynikami otrzymanymi metodą Sedimatic 100 (Goffin Meyvis, Etten-Leur, Holandia). Ponadto w pewnych podgrupach pacjentów analizowaliśmy wyniki obu testów – u pacjentów z chorobami reumatologicznymi i pacjentów z podejrzeniem gammopatii monoklonalnej. Dodatkowo mierzono stężenie fibrynogenu, aby ocenić zależność pomiędzy rzeczywistymi stężeniami fibrynogenu mierzonymi przy pomocy metody turbidymetrycznej¹⁰ a wartościami LSRB w TEST 1.

Wykazano doskonałą ogólną korelację pomiędzy systemem TEST 1 i metodą Sedimatic 100, uzyskując następujące wartości korelacji: $y=1,00x$; $n=733$; $r=0,92$, 95% CI od 0,90 do 0,93; $p<0,0001$.

Jak przedstawiono na wykresie Bland-Altmana na Rycinie 1., średnie odchylenie wyniosło $-0,15$ mm/h.

Nie stwierdziliśmy błędu systematycznego pomiędzy obiema metodami, na co wskazuje 95% przedział ufności, znajdujący się w zakresie od $-0,48$ do $0,75$ mm/h (granice zgodności – od $17,0$ do $16,9$ mm/h). To jest całkowicie zgodne z wcześniejszymi pracami, w których przedstawiono podobną korelację danych z innymi metodami ICSH^{6,9,11}. LSRB otrzymane dwiema metodami było również porównane w próbkach pochodzących od pacjentów z różnymi zaburzeniami reumatycznymi (reumatoidalne zapalenie stawów – 40%, zapalenie stawu – 15,2%, zeszytniające zapalenie stawów kręgosłupa – 8,8%, ostre dnawe zapalenie stawów – 8% i inne – 26%). Obserwowaliśmy dobrą korelację ($y=0,64+0,89x$; $n=150$; $r=0,93$, 95% CI od 0,91 do 0,95; $p<0,0001$) w tej grupie próbek (dane nie prezentowane). Te wyniki wskazują, że metoda TEST 1 jest szczególnie odpowiednia do pomiaru LSRB u pacjentów z zaburzeniami reumatycznymi.

Oznaczaliśmy stężenie fibrynogenu przy pomocy metody turbidymetrycznej¹⁰ w próbkach z EDTA, dla których zmierzono również LSRB. Nasze wyniki wykazują zadowalającą korelację pomiędzy zawartością fibrynogenu a wartością LSRB ($y=3,13+0,059x$; $n=765$; $r=0,78$, 95% CI od 0,75 do 0,80; $p<0,0001$). Wcześniejsze badanie dało również znaczącą, choć niż-

szą ($r=0,49$), korelację z LSRB mierzonym metodą TEST 1⁷. Musimy wziąć pod uwagę co najmniej dwa możliwe wytłumaczenia tej różnicy – inna populacja pacjentów lub inna metoda oznaczania fibrynogenu. Według naszej oceny to drugie jest najbardziej prawdopodobną przyczyną, ponieważ stosowaliśmy oznaczanie fibrynogenu przy użyciu turbidymetrii, podczas gdy inni badacze wcześniej stosowali koagulometryczne. Z jednej strony turbidymetria może być mniej specyficzna dla fibrynogenu, ale z drugiej – testy oparte na pomiarze czasów krzepnięcia mogą być zaburzone przez obecność heparyny i produktów degradacji fibrynogenu. Wreszcie przy użyciu TEST 1 oznaczaliśmy LSRB w ograniczonej liczbie próbek ($n=29$) pochodzących od pacjentów z obecnością białek monoklonalnych w znanym stężeniu (w zakresie od 1 do 22,8 g/l; IgM 31%, IgG 49%, IgA 20%) w odpowiednich próbkach z EDTA. Stwierdzono zadowalającą korelację pomiędzy zawartością białka monoklonalnego i LSRB w TEST 1 ($y=0,69+0,22x$; $n=29$; $r=0,71$, 95% CI od 0,45 do 0,85; $p<0,0001$), a doskonałą korelację, kiedy wzięto pod uwagę białka jedynie klasy IgM ($y=-0,95+0,23x$; $n=9$; $r=0,93$, 95% CI od 0,71 do 0,99; $p<0,0002$). Można dysktować, że IgM z racji swojej pentamerowej budowy, może służyć jako silniejsze źródło tworzenia rulonów erytrocytów w porównaniu z IgG czy IgA, w ten sposób prawdopodobnie tłumacząc ilościową zależność pomiędzy LSRB TEST 1 a stężeniem IgM.

Podsumowując, niniejsza praca potwierdza poprzednie doniesienia, że TEST 1 jest wiarygodną metodą pomiaru LSRB oraz po raz pierwszy wykazuje ilościową zależność pomiędzy LSRB w TEST 1 a białkami monoklonalnymi, szczególnie klasy IgM.



Tekst oryginalny pochodzi z *Clin Chem Lab Med* 2006;44(7):904-906 © 2006 by Walter de Gruyter • Berlin • New York. DOI 10.1515/CCLM.2006.151.

Tłumaczenie redakcja

Piśmiennictwo

1. International Council for Standardization in Hematology (Expert Panel on Blood Rheology): ICSH recommendations for measurement of erythrocyte sedimentation rate. *J Clin Pathol* 1993;46:198-203.
2. Sox HC, Liang MH. The erythrocyte sedimentation rate. *Ann Intern Med* 1986;4:515-23.
3. Johansson J, Sigurdsson T, Holberg L, Bergstrom R. Erythrocyte sedimentation rate as a tumor marker in human prostatic cancer. *Cancer* 1992;6:1556-63.
4. Gillum RF, Mussolino ME, Makuc DM. Erythrocyte sedimentation rate and coronary heart disease; the NHANES. I epidemiologic follow-up study. *J Clin Epidemiol* 1995;3:353-61.
5. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systematic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340:186-9.
6. Plebani M, De Toni S, Sanzari MC, Bernardi D, Stockreiter E. The TEST 1 automated system. A new method for measuring the erythrocyte sedimentation rate. *Am J Clin Pathol* 1998;110:334-40.
7. Piva E, Sanzari MC, Servidio G, Plebani M. Length of sedimentation reaction in undiluted blood (erythrocyte sedimentation rate): variations with sex and age and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2001;3S:451-4.
8. Piva E, Fassina P, Plebani M. Determination of the length of sedimentation reaction (erythrocyte sedimentation rate) in non-anticoagulated blood with the Microtest 1. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:713-7.
9. Romero A, Munoz M, Ramirez G. Length of sedimentation reaction in blood: a comparison of the Test 1 ESR system with the ICSH reference method and the Sedisystem 15. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:232-7.
10. Bakker AJ, Gorgels JP, Draaisma J, Jongendijk M, Altena L, Hamersma A, et al. Simple method for correcting total protein in plasma for actual fibrinogen content. *Clin Chem* 1992;38:2221-3.
11. De Jonge N, Sewkaransing I, Slinger J, Rijdsdijk JJ. Erythrocyte sedimentation rate by the Test-1 analyzer. *Clin Chem* 2000;46:881-2.

Mity na temat cukrzycy

Mit nr 1:

CUKRZYCĄ MOŻNA SIĘ ZARAZIĆ OD KOGOŚ INNEGO

NIE! Mimo że nie do końca wiadomo dlaczego niektóre osoby chorują na cukrzycę, wiadomo na pewno, że cukrzyca nie jest zaraźliwa. Nie można się nią zarazić tak jak katarem, czy grypą. Wydaje się, że istnieje powiązanie genetyczne związane z cukrzycą, szczególnie jeśli chodzi o typ drugi. Pewną rolę odgrywa też styl życia.

Mit nr 2:

LUDZIE Z CUKRZYCĄ NIE MOGĄ JEŚĆ SŁODYCZY ANI CZEKOLADY

Słodycze i desery mogą być spożywane przez osoby z cukrzycą jeżeli są częścią zdrowej diety lub połączone z ćwiczeniami fizycznymi. Słodycze nie są zakazane diabetykom bardziej niż ludziom zdrowym.

Mit nr 3:

JEDZENIE ZBYT DUŻEJ ILOŚCI CUKRU POWODUJE CUKRZYCĘ

NIE! Cukrzyca jest powodowana kombinacją czynników genetycznych i stylu życia. Nadwaga zwiększa ryzyko wystąpienia cukrzycy typu drugiego. Jeżeli w Twojej rodzinie były przypadki cukrzycy, przestrzeganie zdrowej diety oraz regularne ćwiczenia fizyczne są zalecane, aby utrzymać odpowiednią wagę ciała.

Mit nr 4:

LUDZIE Z CUKRZYCĄ POWINNI JEŚĆ SPECJALNE POSIŁKI DLA DIABETYKÓW

Zdrowa dieta diabetyka jest taka sama jak u zdrowego człowieka – o niskiej zawartości tłuszczu (szczególnie tych nasyconych i kwasów tłuszczowych typu „trans” znajdujących się w produktach przetworzonych), z umiarkowaną ilością soli i cukru, z posiłkami opartymi na pełnoziarnistych produktach, warzywach oraz owocach. „Diabetyczne” i „dietetyczne” wersje produktów nie przynoszą żadnych korzyści. W dalszym ciągu podnoszą stężenie cukru we krwi, są zazwyczaj droższe i mogą także wywołać biegunkę jeśli za-



wierają słodziki, których dany organizm nie toleruje.

Mit nr 5:

JEŻELI MASZ CUKRZYCĘ, POWINIENEŚ JEŚĆ TYLKO MAŁE ILOŚCI PRODUKTÓW BOGATYCH W SKROBIĘ, TAKICH JAK PIECZYWO, ZIEMNIAKI I MAKARONY

Produkty bogate w skrobię są częścią zdrowej diety. To co jest istotne, to rozmiar porcji. Pieczywo pełnoziarniste, płatki zbożowe, makaron, ryż i warzywa o dużej zawartości skrobi – takie jak ziemniaki, groszek czy kukurydza – mogą być częścią posiłku lub przekąski. Kluczową sprawą jest porcja. Dla większości osób z cukrzycą 3–4 porcje

żywności zawierającej węglowodany będą odpowiednie. Produkty z pełnego ziarna i bogate w skrobię są dobrym źródłem błonnika, który ma pozytywny wpływ na trawienie i usprawnia pracę jelit.

Mit nr 6:

LUDZIE Z CUKRZYCĄ SĄ BARDZIEJ PODATNI NA PRZEZIĘBIENIA I INNE CHOROBY

NIE! Jeśli masz cukrzycę wcale nie jesteś bardziej podatny na przeziębienie czy inną chorobę. Jednak zaleca się, aby osoby chore na cukrzycę szczepiły się przeciwko grypie. A to dlatego, że jakakolwiek infekcja ma negatywny wpływ na kontrolę cukru we krwi, co zwiększa ryzyko wystąpie-

nia hiperglikemii, a u osób z pierwszym typem cukrzycy zwiększa też prawdopodobieństwo kwasicy ketonowej.

Mit nr 7:
INSULINA POWODUJE MIAŻDŻYCĘ
I WYSOKIE CIŚNIENIE

Nie, insulina nie powoduje miażdżycy. Istnieją laboratoryjne dowody, że insulina może pobudzać niektóre z wczesnych procesów powiązanych z miażdżycą. Dlatego niektórzy lekarze obawiają się, że insulina może przyczynić się do podwyższenia ciśnienia krwi oraz twardnienia naczyń krwionośnych. Ale tak nie jest!

Mit nr 8:
INSULINA POWODUJE TYCIĘ,
A PONIEWAŻ OTYŁOŚĆ
MA NIEKORZYSTNY WPŁYW
NA ORGANIZM, NIE POWINNO SIĘ JEJ
PRZYJMOWAĆ

Różne badania pokazały, że korzyści z kontroli glukozy oraz przyjmowania insuliny daleko przewyższają ryzyko tycia.

Mit nr 9:
OWOCE SĄ ZDROWYM POŻYWIENIEM.
DLATEGO MOŻESZ ICH JEŚĆ
TAK DUŻO, ILE CHCESZ

Owoce są zdrowym pożywieniem. Zawierają błonnik oraz dużo witamin i mi-

nerałów. Ponieważ zawierają też węglowodany, należy je uwzględnić w planie posiłków. Porozmawiaj ze swoim dietetykiem na temat ilości oraz częstotliwości i rodzajów owoców, które powinieneś jeść.

Mit nr 10:
NIE MUSISZ NICZEGO ZMIENIAĆ
W KONTROLI CUKRZICY
JEŚLI WARTOŚĆ HEMOGLOBINY
GLIKOWANEJ NIE JEST WYŻSZA
NIŻ 8%

Im lepsza kontrola cukru we krwi, tym mniejsze ryzyko powikłań wynikających z cukrzycy. Wartość HbA1c około 7% nie oznacza dobrej kontroli. Celem jest osiągnięcie wartości poniżej 7%. Im Twój wynik HbA1c jest bliższy wartości u zdrowego człowieka (poniżej 6%), tym mniejsze prawdopodobieństwo powikłań. Jednak wzrasta wtedy ryzyko hipoglikemii, szczególnie przy pierwszym typie cukrzycy. Porozmawiaj z lekarzem lub kimś z zespołu medycznego na temat jaki wynik HbA1c jest dla Ciebie najodpowiedniejszy.

Artykuł pochodzi ze strony:
www.diabetes.org/diabetes-myths.jsp