



cobas

Life needs answers

Nr
30

ISSN 1644-8448

nakład: 1000 egz.

Lab*Forum*

Roche Diagnostics –
podsumowanie roku 2006



Diagnostics



Kompletny Raport roczny dostępny pod adresem:
http://www.roche.com/home/figures/fig_annualresults_2006.htm

Raport roczny 2006



Diagnostics

Szanowni Państwo,

Już po raz trzydziesty spotykam się z Państwem na łamach naszego kwartalnika. Chciałbym podzielić się wynikami, jakie nasza firma osiągnęła w ubiegłym roku. Zostały one opublikowane w corocznym raporcie.

Roche Diagnostics pomimo wciąż rosnącej konkurencji, utrzymuje pozycję lidera światowego z 19% udziałem w rynku. Wprowadzenie nowych produktów na rynek pozwoliło nam osiągnąć 5% wzrost sprzedaży przekraczający nieco ogólny wzrost rynku światowego. W wyniku dużych inwestycji w zakresie nowych produktów wprowadzonych na rynek w 2006 roku, zysk operacyjny firmy Roche zmniejszył się.

Chciałbym podzielić się z Państwem ubiegłorocznym dorobkiem poszczególnych działów RDP.

W Dziale Diabetologii z sukcesem zakończono wprowadzanie nowych systemów monitorowania glikemii, systemów infuzyjnych i oprogramowania nowych produktów Accu-Chek. Stworzyły one pełną ofertę dla ludzi z cukrzycą poprawiając tym samym jakość ich życia.

Diagnostyka Scentralizowana wprowadziła nową rodzinę analizatorów **cobas® 6000** oraz analizator biochemiczny **cobac c 111**.

Dział Immunodiagnostyki zanotował 13% wzrost sprzedaży, głównie dzięki nowoczesnym markerom kardiologicznym jak Elecsys NT-proBNP i Elecsys Troponin T.

Diagnostyka Molekularna skierowała swoje wysiłki na procesy automatyzacji badań. Kolejna nowa platforma COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan oferuje różnorodne badania wirusologiczne wraz z testami do ilościowego oznaczania HIV i wzw typu B i C. W czerwcu ubiegłego roku zaprezentowaliśmy nowy w pełni automatyczny system **cobas s 201** i test **cobas TaqScreen MPX** do badań przesiewowych. Pozwala on jednocześnie oznaczać wirusy HIV, HCV i HBV we krwi.

Dział Applied Science dzięki systemowi Genome Sequencer 20 może pochwalić się wejściem na nowy segment rynku. Ten innowacyjny aparat wykorzystywany będzie do badań w sekwencjonowaniu genów. W 2006 roku dział Applied Science wprowadził na rynek aparat LightCycler 480, platformę opartą o technologię PCR przeznaczoną do ekspresji genów i analiz mutacji.

O planach firmy na 2007 najtrafniej wypowiedział się Sewerin Schwan, CEO Roche Diagnostics, „W wielkim skrócie: wszyscy musimy skupić się na wykonaniu. W zeszłym roku wprowadziliśmy wspaniałe produkty(...) Obecnie musimy przy ich pomocy przeniknąć rynki i umocnić pozycję.”

Podsumowując, przed nami następny rok wyjątkowej pracy z myślą i troską o dobro naszych klientów.

Z poważaniem,

Andrzej Banaszkiewicz
wraz z zespołem RDP

Spis treści:

Raport roczny 2006	2
Racjonalna interpretacja badań laboratoryjnych – niektóre aspekty statystyczne i epidemiologiczne	3–8
Wielkość sedymentacji w nierozcieńczonej krwi (odczyn opadania erytrocytów): zmienność zależna od płci i wieku oraz granice zakresu wartości referencyjnych	8–11
Diagnostyka zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV)	12–13
System szybkiej diagnostyki kardiologicznej	13–14
Wielka Orkiestra Świątecznej Pomocy	14–16

Nasz adres:

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.
 ul. Wybrzeże Gdynskie 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

Racjonalna interpretacja badań laboratoryjnych – niektóre aspekty statystyczne i epidemiologiczne

dr n. med. Włodzimierz Pawłowski, Kierownik Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej,
Wojewódzki Szpital Zespolony w Poznaniu

Błędy związane z diagnostyką laboratoryjną tradycyjnie dzieli się na dotyczące fazy przedanalizycznej, analitycznej i postanalizycznej. Ze względu na stałe udoskonalanie i automatyzację techniki wykonania badań, błędy analityczne stają się stopniowo coraz rzadsze. Z roku na rok więcej uwagi poświęca się olbrzymiemu i skomplikowanemu problemowi wpływu czynników przedanalizacyjnych na jakość analiz laboratoryjnych; najbliższe lata przyniosą prawdopodobnie szereg nowych informacji na ten temat. Szczególnie trudne i złożone zagadnienie dotyczy wpływu leków (a zwłaszcza politerapii) na wynik oznaczenia laboratoryjnego.

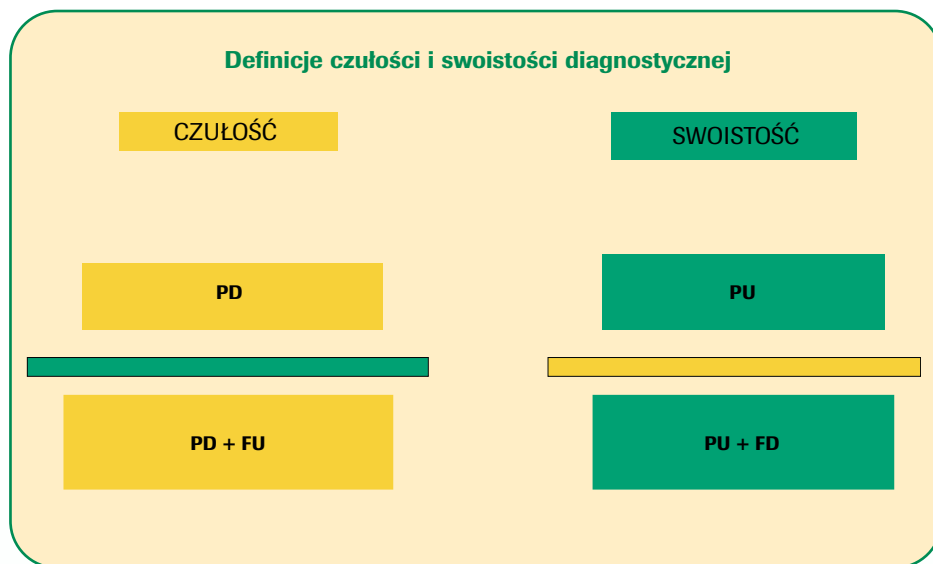
Wydaje się, że stosunkowo najmniej rozpowszechniona w środowisku pracowników związanych z medycyną laboratoryjną jest wiedza dotycząca kwestii interpretacyjnych (jeden z elementów fazy postanalizycznej). Wg moich obserwacji, w naszym kraju problem ten (braku elementarnej wiedzy na temat ogólnych zasad interpretacji wyników badań) jest szczególnie widoczny, co może dziwić w aspekcie dużych aspiracji (i uprawnień związanych z obowiązującym prawem) pracowników laboratoriów do współdecydowania o losach chorego.

W poniższym opracowaniu przedstawiono kilka uwag, które mogą, moim zdaniem, ułatwić racjonalne podejście do produktu działań diagnostyki – wyniku badania laboratoryjnego.

1. Czulość i swoistość diagnostyczna

Dość powszechnie znajomość tych pojęć sprowadza się do umiejętności przedstawienia matematycznych wzorów służących do ich wyliczenia (ryc. 1.):

Istotę powyższych definicji stanowią jednak nie wzory, ale praktyczne zrozumienie co one oznaczają. Można zaproponować następujący tok rozumowania:



Ryc. 1. PD, PU, FD, FU – liczba wyników prawdziwie dodatnich, prawdziwie ujemnych, fałszywie dodatnich, fałszywie ujemnych. PD+FU = CHORZY; PU+FD = ZDROWI. Ilorazy zwyczajowo wyrażane są w procentach (mnożone razy 100).

A) Dysponując badaniem o czulości (CZ) 90%, badając próbki 100 chorych na dane schorzenie, stwierdzimy wynik patologiczny w (średnio) 90 przypadkach.

B) Dysponując badaniem o swoistości (SW) 80%, badając próbki 100 zdrowych powinniśmy stwierdzić wynik w zakresie wartości referencyjnych w (około) 80 przypadkach.

Inaczej mówiąc:

A) CZ – to prawdopodobieństwo uzyskania wyniku dodatniego (patologicznego), jeśli mamy do czynienia z materiałem pochodzącym od chorego.

B) SW – jest prawdopodobieństwem uzyskania wyniku ujemnego (prawidłowego), jeśli badamy materiał uzyskany od osoby zdrowej.

Oczywiście:

• wartości CZ nie są uniwersalne dla danego badania: zależą przede wszystkim od schorzenia, które chcemy diagnozować (np. zupełnie różne wartości CZ

aktywności aminotransferazy alaninowej w zależności od tego, czy przeprowadzamy diagnostykę w kierunku ostrego zapalenia wątroby, przewlekłego zapalenia wątroby, guza wywodzącego się z hepatocytów itd., czy wreszcie „jakiegokolwiek” uszkodzenia wątroby); wartość liczbowa CZ zależy również dramatycznie od fazy choroby, co w schorzeniach ostrych może mieć konsekwencje w postaci zmian CZ nawet z godziny na godzinę (np. stężenie troponiny w zawale mięśnia sercowego);

• wartość SW może podlegać szczególnej manipulacji w tym sensie, że pojęcie ZDROWI w mianowniku równania na swoistość diagnostyczną powinno – teoretycznie – oznaczać nieobecność schorzenia, które chcemy diagnozować danym testem; tak więc jeśli badamy SW diagnostyczną pewnego testu w rozpoznawaniu ostrego zapalenia

trzustki, interesuje nas grupa „zdrowych” – bez zapalenia trzustki (ale uczciwie jest włączenie do tej grupy osób z różnymi innymi schorzeniami, zwłaszcza takimi, które są częste w badanej populacji i (!) trudnymi do różnicowania z interesującą nas chorobą – w tym wypadku ostrym zapaleniem trzustki). W praktyce warto przyjąć ostrożne założenie, że podawane w literaturze wartości SW stanowią najbardziej optymistyczną wersję.

Pojęcia czułości i swoistości diagnostycznej (składające się wspólnie na pojęcie dokładności diagnostycznej), istotne i ważne, stanowią jednak jedynie punkt wyjścia do zrozumienia czy i w jakim stopniu rezultat badania dodatkowego może wspomagać lekarza w podejmowaniu decyzji klinicznych.

2. Współczynniki prawdopodobieństwa – wskaźniki wiarygodności (likelihood ratios)

Wymiar praktyczny tych pojęć (współczynnika prawdopodobieństwa wyniku dodatniego: LR+ oraz współczynnika prawdopodobieństwa wyniku ujemnego: LR-) sprowadza się do następujących stwierdzeń:

- LR+ obrazuje jak bardzo (ile razy) rośnie szansa rozpoznania diagnozowanej choroby, jeśli wynik badania jest dodatni, w stosunku do momentu przed wykonaniem badania

- LR- określa jak bardzo (ile razy) maleje szansa (w stosunku do momentu przed wykonaniem badania) rozpoznania choroby, jeśli uzyskujemy wynik ujemny

LR+ jest obliczany jako iloraz czułości i odwrotności swoistości ($CZ/1-SW$), podczas gdy LR- może być wyrażony ilorazem odwrotności czułości i swoistości ($1-CZ/SW$); należy pamiętać, że w tym wypadku CZ i SW nie należy wyrażać w procentach, ale w częściach jedności (np. CZ 50% = 0,5; SW 98% = 0,98). Rzecz jasna badanie jest tym dokładniejsze im LR+ przyjmuje wyższą wartość a LR- wartość niższą.

Często przyjmuje się, że badanie laboratoryjne w zasadniczy sposób przemawia za rozpoznaniem poszukiwanego stanu klinicznego, zwłaszcza w populacji niewy-

selekcjonowanej, jeśli LR+ przekracza 10. Łatwo sprawdzić, że taka możliwość istnieje jedynie w przypadku testów o swoistości diagnostycznej wynoszącej co najmniej 90%. Z reguły uważa się, że analizy, dla których LR+ jest mniejszy niż 2 a LR- większy od 0,5 nie mają znaczenia w, odpowiednio, rozpoznawaniu i wykluczeniu danego stanu klinicznego.

3. Wartość diagnostyczna (predykcyjna) wyniku dodatniego i ujemnego

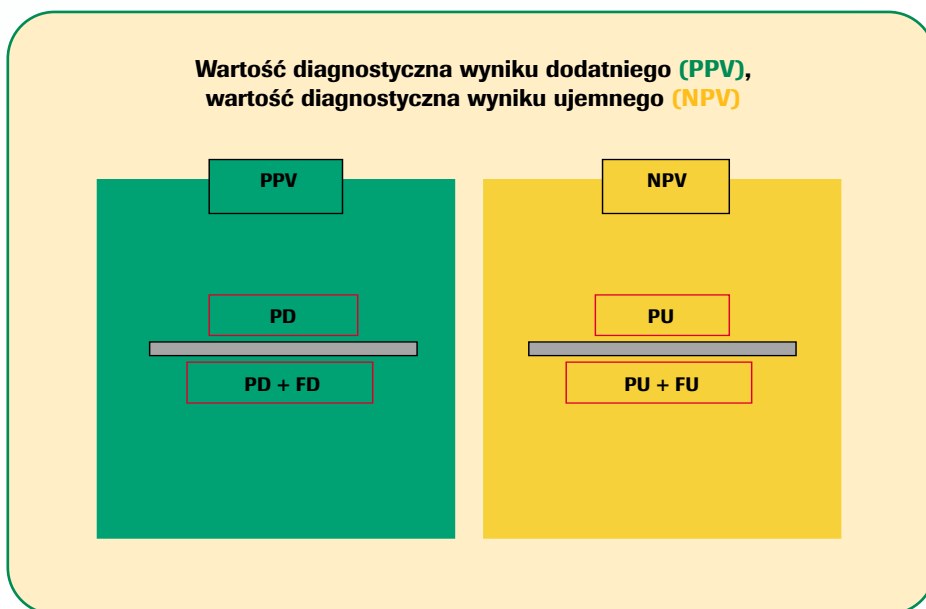
Dość powszechnie używane są skróty tych pojęć wywodzące się z języka angielskiego: PPV = *positive predictive value* oraz NPV = *negative predictive value*.

Z punktu widzenia odbiorcy wyniku badania dodatkowego, wartości liczbowe tych właśnie pojęć są najbardziej istotne w przewidywaniu prawdopodobieństwa choroby (lub jej braku) albo innych alternatywnych stanów klinicznych (np. łagodnego i złośliwego przebiegu schorzenia, prawidłowej lub niewłaściwej terapii itd.). Matematyczna formuła służąca do obliczania PPV i NPV jest równie prosta jak w przypadku CZ i SW (ryc. 2.):

B) NPV – to prawdopodobieństwo, że mamy do czynienia z osobą nie chorującą na dane schorzenie („zdrową”), jeśli wynik badania jest ujemny.

Pomimo równie prostych definicji matematycznych, w przeciwieństwie do czułości i swoistości diagnostycznej, których wartości liczbowe mogą (i powinny) być określone przez producentów testów, PPV i NPV przyjmują bardzo różne wielkości, w zależności od sytuacji klinicznej, w której zleca się wykonanie badania dodatkowego. **Zależą one bowiem w sposób zasadniczy od prawdopodobieństwa schorzenia przed wykonaniem testu (*pre-test probability of disease* – ppd), zwanego także prawdopodobieństwem *a priori*.** W skrajnej sytuacji (badania przesiewowe) prawdopodobieństwo to równa się chorobowości w danej populacji. W większości przypadków może (i powinno) być oceniane przez lekarza na podstawie całokształtu obrazu klinicznego.

Matematyczną formułę, która może służyć do obliczania korelacji pomiędzy CZ i SW a PPV i NPV, z uwzględnieniem ppd, stworzył Wielebny Thomas Bayes (w wieku XVIII!), ale zaproponowany przez niego

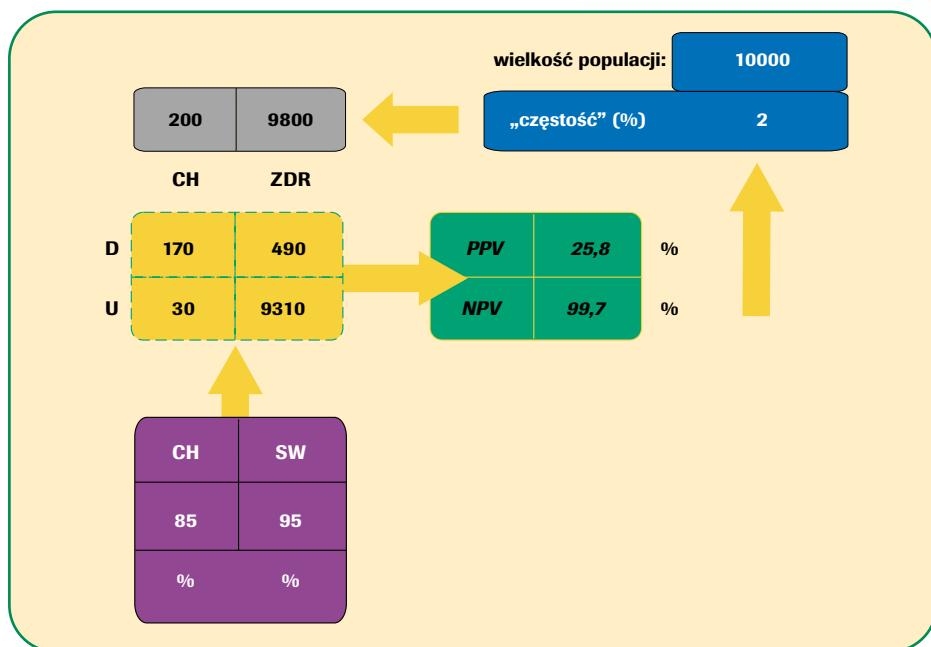


Ryc. 2. Opisy jak na ryc. 1. Ilorazy są zwyczajowo wyrażane w procentach (mnożone razy 100).

Ze wzorów wynika najistotniejsza funkcja praktyczna tych pojęć:

A) PPV – to prawdopodobieństwo, że mamy do czynienia z chorym, jeśli uzyskaliśmy dodatni wynik badania

sposób jest trudny do zastosowania w codziennej rutynie klinicznej. Wydaje się, że stosunkowo najprostszą metodą podejścia do zrozumienia wpływu CZ, SW i ppd na PPV i NPV jest przykład podany w rycinie 3.



Ryc. 3. Proponowany sposób obliczania PPV i NPV, zwany czasem tabelą 2x2. W przykładzie założono, że ppd („częstość”) schorzenia wynosi 2%, czułość 85% a swoistość 95%. „Częstość” oznacza: w badaniach przesiewowych chorobowość w danej populacji, w pozostałych przypadkach – prawdopodobieństwo a priori. CH – chorzy, ZDR – zdrowi, D – liczba wyników dodatnich, U – liczba wyników ujemnych.

Nie ma oczywiście żadnego znaczenia jak dużą wartość wybierzemy, jeśli chodzi o liczebność populacji – powinna ona być po prostu wygodna dla obliczeń.

Warto jeszcze raz podkreślić, że wykonujący badanie dodatkowe nie ma prawie nigdy możliwości oceny ppd – jest to zadanie (niezwykle ważne i często niedoceniane!) dla klinicysty.

Pomimo że wartości PPV i NPV są kluczowe dla lekarzy leczących a nie diagnostów laboratoryjnych, warto jednak by ci ostatni również potrafili rozsądnie podejść do praktycznego znaczenia wyników przez nich produkowanych. Zauważmy (choćby na podstawie kilku ćwiczeń z użyciem schematu z rysunku 3.), że większość badań laboratoryjnych (które na ogół nie posiadają przecież „wyśrubowanych” wartości CZ i SW) służy – w konkretnej sytuacji – albo do potwierdzenia albo wykluczenia rozpoznania (w zależności od ppd). Badania przesiewowe niemal zawsze decydują z dużym prawdopodobieństwem jedynie o wykluczeniu, rzadko natomiast – o potwierdzeniu rozpoznania (zwykle niskie ppd – mało jest schorzeń o bardzo dużej chorobowości w populacji niewyselekcjonowanej).

Podkreślić należy, że zarówno CZ jak i SW mają wpływ na PPV i NPV, z tym, że

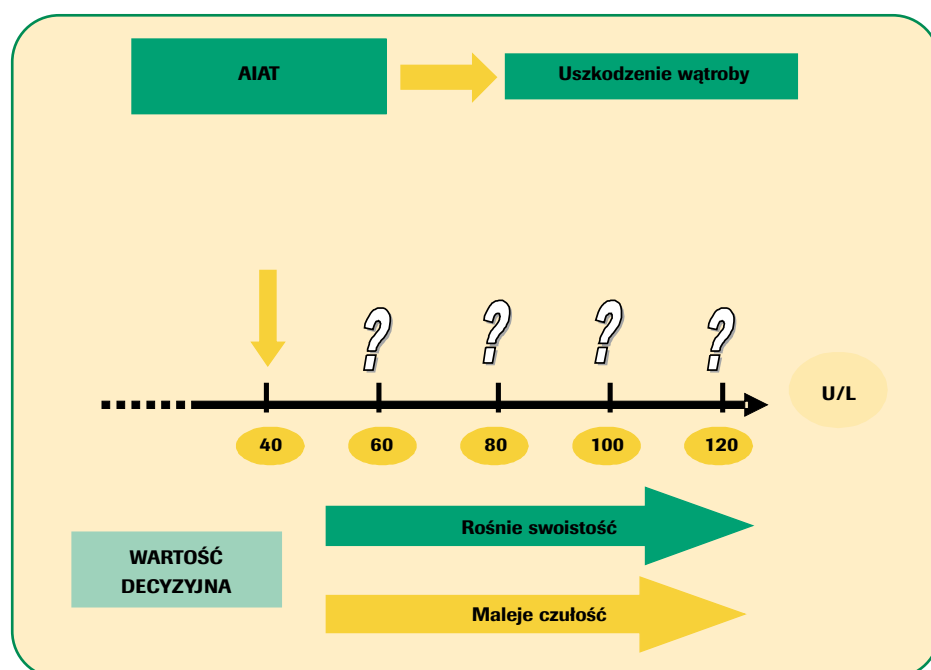
CZ bardziej wpływa na NPV, SW natomiast na PPV.

4. „Manipulowanie” czułością i swoistością diagnostyczną

Znaczna część środowiska medycznego, przywiązuje bardzo dużą wagę do zakre-

sów referencyjnych badań laboratoryjnych (tzw. „norm”). Wydaje się, że wagę nadmierną, choć to stwierdzenie może być dla niektórych „kalaniem świętości”. Z punktu widzenia racjonalnej diagnostyki warto jednak namawiać do elastycznego podejścia do tego zagadnienia. Lekarz powinien zadawać sobie pytanie, czy w danej sytuacji interesuje go bardziej czułość, czy swoistość diagnostyczna (lub inaczej: czy interesuje go raczej wykluczenie czy potwierdzenie rozpoznania). Oczywiście możliwa jest odpowiedź, że zawsze w takim samym stopniu i jedno i drugie, jednak taka postawa istotnie utrudnia racjonalne wykorzystanie badań dodatkowych; w przeciwnym razie – istnieje możliwość wspomnianej „manipulacji”. Dotyczy to w szczególności badań, których wynik obrazowany jest liczbą. Zagadnienie to zostało przykładowo zobrażowane na ryc. 4.

Pomimo że górna granica zakresu normy została określona jako 40 U/L, nie można mechanicznie uznawać, że każda wartość powyżej tej granicy oznacza „uszkodzenie wątroby”; jeśli wszystkie osoby z przypadkowo stwierdzoną aktywnością ALAT np. 50 U/L poddawać by dalszej diagnostyce w kierunku hepatopatii, koszty takiego postępowania byłyby



Ryc. 4. Wpływ zmiany wartości decyzyjnej na czułość i swoistość diagnostyczną. Omówienie w tekście.

ogromne, a skutki – często przeciwne do zamierzonych. W praktyce bowiem wartość 40 U/L cechuje się niską swoistością diagnostyczną – odsetek wyników fałszywie dodatnich będzie znaczny. Dlatego lekarz może (i powinien) elastycznie przesuwając wartości decyzyjne w zależności od sytuacji klinicznej, zwiększając swoistość (kosztem czułości!) lub – odwrotnie – poprawiając czułość (kosztem swoistości!).

Nauczenie się takiego postępowania jest – trzeba przyznać – trudne w ogóle, a w dzisiejszych czasach – szczególnie. Wiąże się to m.in. z coraz większą „algoritmizacją” postępowania lekarskiego i jej wpływem na prawny kontekst medycyny; coraz częściej spotyka się bowiem postawy kliniczne o charakterze „po pierwsze nie przeoczyć”. Jako klasyczną ilustrację tych zagadnień, można podać sytuację, jaka wytworzyła się w ostatnich latach w zakresie wstępnej diagnostyki zatorowości płucnej przy użyciu dimeru D. Powszechnie stosowana w algorytmach postępowania diagnostycznego wartość decyzyjna (500 ng/ml w przypadku testów ELISA) cechuje się doskonałą czułością i bardzo niską swoistością diagnostyczną. Ten fakt z trudem jednak przebijają się do świadomości klinicznej. Bardzo wysoki odsetek wyników fałszywie dodatnich (zwłaszcza w przypadku niedostatecznej preselekcji klinicznej) powodować może niestety różne negatywne skutki: tendencję do nadaktywności diagnostycznej w kierunku zatorowości płucnej z jednej strony, z drugiej – znaczny (obiektywnie: zbyt duży) ogólny sceptycyzm do sensu zlecenia dimeru D. Dla wielu bowiem klinicystów badania, które jedynie wykluczają schorzenie (a nie potwierdzają) są z natury rzeczy „gorsze”, zwłaszcza jeśli odsetek rezultatów ujemnych (niepatologicznych) jest niski. W podanym przykładzie trudno namawiać jednak do manipulowania wartością decyzyjną, skoro wypracowana ona została jako wspólne stanowisko przez wiele towarzystw naukowych.

W przypadku niektórych badań coraz częściej proponowane są dwie wartości decyzyjne: jedna, cechująca się wysoką SW, a więc służąca rozpoznawaniu i druga, cechująca się wysoką CZ – tej używa

się do wykluczania rozpoznania. Takie próby są szczególnie często podejmowane, gdy ustalenie wartości referencyjnych jest – generalnie – dość skomplikowane. Przykładem jest tu stężenie ferrytyny w diagnostyce niedoboru żelaza. Oczywiście, taka sytuacja powoduje istnienie pewnego zakresu wartości należących do „szarej strefy”, jednak wydaje się, że tego typu postępowanie (wyznaczanie dwóch lub nawet kilku wartości decyzyjnych) będzie coraz popularniejsze. Nie dotyczy to jednak wszystkich badań: w podanym przykładzie dimeru D granica o przyzwoitej swoistości diagnostycznej byłaby tak wysoka, że znaczną część osi liczbowej (500–2000, 500–5000 ng/ml) wypełniałaby „szara strefa”.

5. Krzywe ROC

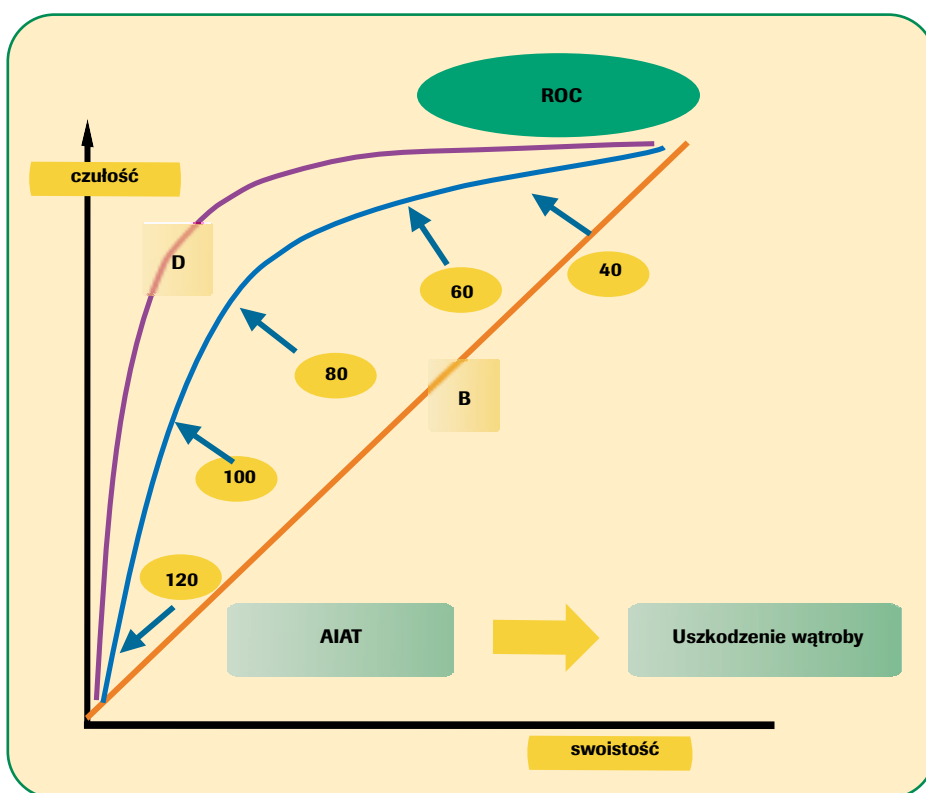
Próbie sumarycznego przedstawienia znaczenia danego badania w rozpoznawaniu określonego stanu klinicznego stanowiło wprowadzenie graficznego obrazowania zależności czułości od swoistości diagnostycznej (dokładniej: od odwrotności

swoistości) przy użyciu tzw. krzywych ROC (ryc. 5.).

Taka forma wyrażania CZ i SW ma niezaprzeczalne walory w postaci – przede wszystkim – możliwości porównywania dokładności dwóch lub większej liczby testów diagnostycznych w rozpoznawaniu określonego stanu klinicznego (im większe pole powierzchni pod krzywą ROC tym lepsza dokładność diagnostyczna). Dlatego taki sposób porównywania testów między sobą jest aktualnie bardzo popularny w pracach naukowych.

Trudno jednak o aplikacje krzywych ROC w bezpośrednie decyzje diagnostyczne w codziennej praktyce lekarskiej. Wynika to z dwóch podstawowych faktów:

- zazwyczaj z krzywej ROC trudno odczytać jakiej konkretnie wartości (stężenia, aktywności, współczynnika itp.) odpowiadają poszczególne miejsca na krzywej;
- krzywe ROC nie uwzględniają (bo nie mogą) aspektu epidemiologicznego, czy też – ujmując szerzej – ppd.



Ryc. 5. Wartości z ryciny 4. przedstawione na krzywej ROC. Przykład testu dokładniejszego od AIAT w rozpoznawaniu patologii wątroby obrazuje krzywa D. Badanie bezużyteczne pokazuje prosta B (każdemu wzrostowi SW towarzyszy identyczny odsetkowo spadek CZ i odwrotnie).

Dosyć często przyjmuje się, że „najrozsądniejszą” wartością odcięcia na krzywej ROC jest ta, która leży najbliżej lewego górnego rogu rysunku.

6. Dwa testy zamiast jednego jako sposób na zwiększanie czułości i swoistości diagnostycznej

Wśród lekarzy panuje dość powszechne przekonanie, że dokładność diagnostyczna zwiększana jest zawsze przez mnożenie testów i jedynie aspekt finansowy powoduje, że liczba badań musi być ograniczona. Nie można do takiego sądu podchodzić bezkrytycznie. Należy albowiem, korzystając z zasad logiki, zauważyć, że:

- podejście alternatywne (rozpoznajemy schorzenie jeśli test A lub test B daje wynik dodatni) zwiększa wprawdzie CZ, ale negatywnie wpływa na SW (rośnie prawdopodobieństwo, że A lub B będą fałszywie dodatnie)
- podejście koniunktywne (rozpoznajemy schorzenie jeśli test A i test B dają wynik dodatni) zwiększa SW, ale negatywnie wpływa na CZ (rośnie prawdopodobieństwo uzyskania wyniku fałszywie ujemnego)

Oczywiście tym bardziej dotyczy to większej liczby badań.

Na podobnej zasadzie rozumowanie takie odnosi się również do wielokrotnego wykonywania tego samego badania (A lub A lub A, albo A i A i A). Można by to zreasumować dość absurdalną, ale przemawiającą do wyobraźni konstatacją: wykonanie nieskończonej liczby badań skutkuje (przy podejściu alternatywnym) 100% czułością diagnostyczną i zerową swoistością diagnostyczną (jednocześnie: idealną wartością diagnostyczną wyniku ujemnego i skrajnie niską wartością diagnostyczną wyniku dodatniego). Podobne rozumowanie można przeprowadzić dla podejścia koniunktywnego.

I w tym zakresie najważniejsze jest zachowanie rozsądku i uwzględnienie kontekstu klinicznego (jakie jest prawdopodobieństwo choroby przed wykonaniem badań i czy bardziej zależy nam na potwierdzeniu czy wykluczeniu schorzenia).

Nieco odrębnym zagadnieniem jest, często praktykowane, wykonywanie dwóch różnych testów w sposób sekwen-

cyjny („jeden po drugim”). W takim przypadku rozsądne podejście diagnostyczne nakazuje, by na etapie wykonywania drugiego testu, rezultat pierwszego był już uwzględniony w oszacowanie prawdopodobieństwa *a priori*.

7. Test definitywny

Warunkiem racjonalności wszystkich powyższych rozważań jest możliwość jednoznacznego ustalenia CZ i SW. Takie założenie może być przyjęte tylko pod warunkiem, że dysponujemy wiarygodnym testem definitywnym, czyli takim, który na zasadzie „zero-jedynkowej” (a więc ze 100% czułością i swoistością) rozróżnia nam alternatywne stany kliniczne (np. zdrowie od pewnego schorzenia). Taki test stanowi punkt odniesienia przy ustalaniu dokładności diagnostycznej innych badań.

Tymczasem proste i dostępne testy definitywne stanowią w medycynie raczej wyjątek niż regułę. Dość często rolę taką pełni badanie cytologiczne/histopatologiczne lub wręcz anatomopatologiczne – pośmiertne. Pomijając fakt, że w tym przypadku trudno mówić o pełnej obiektywności oceny (liczne prace przytaczają przykłady, w których przekazanie tego samego materiału tkankowego do oceny wielu specjalistom skutkowało zupełnie rozbieżnymi wnioskami), rozpoznania wielu jednostek chorobowych nie da się zweryfikować w ten sposób a niewystarczająca liczba badań pośmiertnych nie zawsze umożliwia stosowanie tego kryterium.

Dlatego nierzadko, rolę „testu definitywnego” pełni arbitralnie ustalona (przez grona eksperckie) definicja choroby. Cudysłowy w poprzednim zdaniu nie oznacza lekceważenia przez autora takiego trybu postępowania, ale zwraca uwagę na pewną umowność tego typu rozpoznań. Można podać szereg przykładów schorzeń, w których rozpoznanie polega na ustaleniu obecności (lub braku) kilku z wielu objawów. Klasycznym i jednym z najwcześniejszych w nowoczesnej medycynie na to przykładów może być rozpoznawanie reumatoidalnego zapalenia stawów (stwierdzenie co najmniej 4 z 7 objawów).

Ilustracją pewnego paradoksu może na tym przykładzie być fakt, że ustalanie CZ i SW przeciwiału anty-CCP może się odbywać przez odniesienie ich obecności lub nieobecności u pacjentów z RZS, wyodrębnionych z populacji ogólnej na podstawie kryteriów, do których zalicza się m.in. obecność czynnika reumatoidalnego (uznawanego obecnie za badanie o istotnie mniejszej SW niż anty-CCP).

Powyższe uwagi powodują, że często zamiast pojęcia „test definitywny” stosuje się – mniej jednoznaczne – „test referencyjny”.

Zakończenie

Nauczanie omawianych w artykule zagadnień należy – moim zdaniem – do najważniejszych wyzwań dla nauczycieli akademickich przygotowujących adeptów różnych zawodów medycznych. Trudność zadania wynika, w moim przekonaniu, z dwóch podstawowych przesłanek. Po pierwsze, studenci medycyny i kierunków pokrewnych nie dysponują na ogół odpowiednio szeroką wyobraźnią, by uświadomić sobie, że zrozumienie tych – dość skomplikowanych – kwestii może być przydatne w codziennej, rutynowej pracy. Po drugie: nauczanie medycyny odbywa się zwykle w obrębie jednostek akademickich, w których – generalnie – studenci (i ich nauczyciele!) obracają się w mocno wyselekcjonowanej grupie pacjentów; w tym sensie nie jest to miejsce idealne, ponieważ prawdopodobieństwo *a priori* jest tu zwykle wielokrotnie większe niż w warunkach, w których praktykować będzie w przyszłości znaczna część lekarzy, pielęgniarek, diagnostów itd. Fakt ten sprawia, że studenci na zajęciach (i ich nauczyciele!) spotykają się przeważnie ze znacznie mniejszym odsetkiem wyników fałszywie dodatnich niż medycy praktykujący w populacji mniej wyselekcjonowanej.

Wydaje się, że jedyną logiczną i praktyczną możliwością racjonalnego nauczania tych kwestii jest okres szkolenia podyplomowego. Czy możliwością realizowaną? Nie podejmuję się udzielić odpowiedzi na to pytanie.

Piśmiennictwo

1. Andrew C, Miller D: Podejrzenie zatorowości płucnej. *Medycyna po Dyplomie*, 2006, 1, 107.
2. Brożek J, Jaeschke R, Gajewski P, Leśniak W: Ocena informacji o metodzie diagnostycznej. W: *Choroby wewnętrzne*, red. Andrzej Szczeklik, Medycyna Praktyczna, Kraków 2006.
3. Bell M: Reading an article about diagnosis. Michigan State University: www.poems.msu.edu.
4. Fagan T: Normogram for Bayes' theorem. *N Engl J Med* 1975, 293, 257.
5. Jaeschke R, Cook D, Guyatt G: Ocena artykułów na temat testów diagnostycznych – cz. I – ocena wiarygodności i uwagi ogólne. *Medycyna Praktyczna*, 1998, 10, 156.
6. Jaeschke R, Cook D, Guyatt G: Ocena artykułów na temat testów diagnostycznych – cz. II – metody określania przydatności testu. *Medycyna Praktyczna*, 1998, 11, 184.
7. Kochańska-Dziurawicz A, Klimek K, Mielniczuk M: Przydatność krzywych ROC w ocenie stosowanych testów laboratoryjnych. *Diagn Lab* 1999, 1, 83.
8. Oxford Centre for Evidence Based Medicine: www.cebm.net.
9. Sackett D, Rennie D: The science and art of the clinical examination. *JAMA*, 1992, 267, 2650.
10. Zimmermann-Górska I: Choroby reumatyczne. W: *Choroby wewnętrzne*, red. Andrzej Szczeklik, Medycyna Praktyczna, Kraków 2006.

Wielkość sedymentacji w nierozcieńczonej krwi (odczyn opadania erytrocytów): zmienność zależna od płci i wieku oraz granice zakresu wartości referencyjnych

Elisa Piva, Maria Colomba Sanzari, Giuseppe Servidio i Mario Plebani,
Wydział Medycyny Laboratoryjnej, Szpital Uniwersytecki w Padwie, Włochy

Pomimo że wielkość reakcji sedymentacji we krwi (*length of sedimentation reaction in blood*, LSRB) (powszechnie, ale niewłaściwie nazywana odczynem opadania erytrocytów, OB) jest od dawna używany w laboratoriach klinicznych z powodu swojej prostoty i niskich kosztów, to czułość i specyficzność tego testu są niezadowalające. Zwykle oznaczenia wykonywane są przy użyciu metody Westergrena w próbkach antykoagulowanych cytrynianem sodu. Zastosowaliśmy nową procedurę, TEST1™, która mierzy wielkość reakcji sedymentacji w nierozcieńczonych antykoagulowanych K₂EDTA próbkach krwi zgodnie z zaleceniami ICSH (Międzynarodowa Rada ds. Standardyzacji w Hematologii, *International Committee for Standardization in Haematology*). Do oznaczenia granic zakresu wartości referencyjnych użyto próbki od 840 osobników (430 kobiet i 410 mężczyzn, śred-

nia wieku odpowiednio 44 i 46,5 lat, przedział od 1 do 90 lat). Osoby badane podzielono według płci, a dalej na cztery statystycznie różne grupy wiekowe celem określenia granic zakresu wartości referencyjnych (2,5-ty i 97,5-ty percentyl). Wpływ płci był istotny statystycznie w dwóch grupach wiekowych: od 14. do 50. ($p < 0,0001$) i od 50. do 70. roku życia ($p < 0,01$). Nie obserwowaliśmy znaczącej różnicy zależnie od płci w grupach wiekowych od 1. do 14. oraz od 70. do 90. roku życia. Dla obu płci wartości LSRB rosły z wiekiem, w znaczącej korelacji ze stężeniem fibrynogenu ($p < 0,0001$) oraz stawały się istotnie wyższe u osobników starszych niż 70 w porównaniu do wszystkich młodszych badanych osób ($p < 0,01$ u kobiet i $p < 0,02$ dla mężczyzn). W ten sposób określiliśmy odpowiednie zakresy wartości referencyjnych dla osób w podeszłym wieku.

Słowa kluczowe: wielkość reakcji sedymentacji we krwi (patrz odczyn opadania erytrocytów; granice wartości referencyjnych; osoby w podeszłym wieku; próbka nierozcieńczona.

Skróty: CRP, białko C-reaktywne; LSRB, *Length of sedimentation reaction in blood*; OB, odczyn opadania erytrocytów; ICSH, *International Committee for Standardization in Haematology*; IFCC, *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*; NCCLS, *National Committee for Clinical Laboratory Standard*; SD, odchylenie standardowe.

Wstęp

Wielkość reakcji sedymentacji we krwi LSRB stosowana jako niespecyficzny kliniczny marker stanów chorobowych, stanów zapalnych oraz uszkodzenia tkanek. LSRB pomocna jest w monitorowaniu chorób zapalnych, a w szczególności reu-

matoidalnego zapalenia stawów, a także ma wartość w diagnozie oraz klasyfikacji olbrzymiokomórkowego zapalenia tętnic polimialgii reumatycznej⁽¹⁾. W praktyce laboratoryjnej zakres wartości referencyjnych LSRB często jest zaczerpnięty z piśmiennictwa i nie jest oceniany w populacji referencyjnej, w ten sposób wprowadzając prawdopodobne źródło zniekształcenia informacji klinicznej. Odpowiednie granice zakresów wartości referencyjnych wymagane są w szczególności przy zwiększonej liczbie osób w podeszłym wieku. Zmiany związane z wiekiem mogą znacznie zmienić pewne biologiczne parametry u osób starszych bez powstania patologicznego procesu⁽²⁾. W piśmiennictwie nie zaleca się stosowania LSRB jako wielkości klasyfikującej do identyfikowania pacjentów z poważnymi chorobami, a u większości starszych pacjentów z podwyższonym LSRB (>50 mm) choroba zasadnicza jest wysoce prawdopodobna⁽³⁾.

Nie zawsze brane są pod uwagę w szczególności dwie zmienne: a) zgodność wartości otrzymanych przy pomocy technik używanych powszechnie w praktyce klinicznej z wartościami przedstawionymi w piśmiennictwie z zastosowaniem pierwotnej metody Westergrena, b) różnice w wartościach referencyjnych związane z wiekiem.

W ostatnich dziesięcioleciach dwie główne kwestie doprowadziły do rozwoju i wprowadzenia nowych procedur pomiaru LSRB w praktyce klinicznej: potrzeba zagwarantowania bezpieczeństwa obsługi przez zastosowanie zautomatyzowanych i zamkniętych systemów oraz zalety używania nierozcieńczonej krwi z K₃EDTA. To jest zalecana próbka, która powinna być stosowana w nowej referencyjnej metodzie do pomiaru LSRB, jak rekomenduje *International Committee for Standardization in Haematology* (ICSH) oraz *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS)^(4,5).

Ostatnio ocenialiśmy i określiliśmy wiarygodność nowej procedury zautomatyzowanego pomiaru, tak zwany TEST 1™, który umożliwia zautomatyzowany, bezpieczny, precyzyjny i dokładny pomiar LSRB przy użyciu nierozcieńczonych próbek krwi⁽⁶⁾.

Celem niniejszego badania było ustalenie granic zakresu wartości referencyjnych LSRB dla tej nowej procedury przy pomiarze nierozcieńczonych próbek antykoagulowanych K₃EDTA, szczególnie dla populacji referencyjnej w wieku powyżej 70. roku życia.

Materialy i metody

Pacjenci

Nasza populacja referencyjna składała się z 840 zdrowych pacjentów ambulatoryjnych (430 kobiet, 410 mężczyzn, przedział wieku od 1 do 90 lat, średni wiek odpowiednio 44 i 46,5 lat), których wybrano jako lokalną próbę populacji referencyjnej, zgodnie z wytycznymi opracowanymi przez *Expert Panel on Theory of Reference Values* (EPTRV)⁽⁷⁾. Kryteria włączenia używane z wywiadu klinicznego obejmowały brak jakiegokolwiek istotnej choroby (nowotworowych, autoimmunologicznych i reumatycznych chorób, cukrzycy itp.). Ponadto wykluczaliśmy określone stany fizjologiczne takie jak ciąża, forsowne ćwiczenia lub nadużywanie etanolu lub tytoniu. Wszystkie osoby objęte badaniem nie przyjmowały żadnych leków przez ostatnie 3 miesiące i nie miały zwiększonego stężenia trzech biochemicznych markerów stanu zapalnego (fibrynogenu, białka C-reaktywnego (CRP) i ferrytyny). Pacjentów podzielono następnie według płci oraz na grupy wiekowe, z których każda obejmowała 10-letni przedział celem wykrycia statystycznie istotnych granic.

Pobieranie krwi i pomiary

Próbki krwi żyłnej pobierane na K₃EDTA (Becton Dickinson System Europe, Meylan Cedex, Francja) w wystandaryzowanych warunkach (pobierane rano na czczo) badano w ciągu 4 godzin od nakłucia żyły zgodnie z wytycznymi ICSH. Dla każdego pacjenta mierzono liczbę erytrocytów, leukocytów i stężenie hemoglobiny we krwi oraz objętość frakcji erytrocytów używając CoulterGen⁺™ System (Coulter Corporation, Miami, Floryda, USA), a stężenie fibrynogenu mierzono przy pomocy metody pochodnej „czasu protrombinowego” z zastosowaniem ludzkiego rekombinowanego czynnika tkankowego (Amelung CS-400, Dade Behring, Mar-

burg GmbH, Niemcy). Biochemiczne markery stanu zapalnego mierzono konwencjonalnymi technikami – CRP za pomocą immunonefelometrii (BN II, Dade Behring, Mediolan, Włochy) a ferrytynę za pomocą metody chemiluminescencyjnej (Advia Centaur, Bayer Diagnostic Inc., Tarrytown, NY, USA).

Opis systemu: TEST 1™

TEST 1™ (SIRE Analytical System, Udine, Włochy), zamknięty zautomatyzowany analizator mierzy LSRB w wyjściowej próbce standardowego rozmiaru, z perforowaną zatyczką. Probówki umieszczane są w odpowiednich statywach, po czym mieszane przez powolne obracanie przez około 2 minuty. Podajnik próbek przyjmuje jednocześnie cztery statywy każdy na 15 probówek. Próbkę krwi pobierana jest bezpośrednio z probówki do pobrań przez zamkniętą igłę aspirującą, przenoszona do kapilary i wirowana przy około 20 g. Obszar odczytu utrzymywany jest w temperaturze 37°C. System używa mikrofotometru na podczerwień o długości fali 950 nm. Impulsy elektryczne zbierane przez detektor fotodiody są bezpośrednio korelowane z liczbą erytrocytów obecnych w kapilarze. Impulsy mierzone w jednostce czasu są następnie używane do wykreślenia krzywej sedymentacji dla każdej próbki.

Średni spadek sygnału w jednostce czasu zwany „średnim sygnałem” oraz pierwiastek kwadratowy z „sygnału całkowitego” były przekształcane do porównania z wartościami Westergrena przy pomocy modelu regresji liniowej.

System działa z szybkością 110 próbek mierzonych na godzinę przy nieprzerwanym załadowywaniu, dając wynik co 32 sekundy, a wymaga 200 µl krwi z każdej próbki. Wyniki wyrażane są w mm.

Analiza statystyczna

Analizę danych do wyliczenia granic zakresu wartości referencyjnych wykonano zgodnie z połączeniem wytycznych *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) oraz ICSH⁽⁸⁾. Statystyczną analizę danych przeprowadzono przy użyciu oprogramowania MS Excel'98 (Microsoft™Co, Seattle, WA,

USA), pakietu Astute™ (Diagnostic Development Unit, University of Leeds, Wlk. Brytania) i pakietu SPSS™ (SPSS Inc., Chicago, USA). Do oznaczenia normalności zastosowano testy Kołmogorowa-Smirnowa oraz Anderson Darling. Do wyznaczenia istotności różnic statystycznych pomiędzy grupami podzielonymi według płci i wieku użyto jednokierunkową analizę wariancji oraz testy nieparametryczne (test Manna-Whitneya i test Wilcozona). Do oceny korelacji pomiędzy LSRB, hemoglobina i fibrynogenem zastosowaliśmy współczynnik Pearsona®. Wyniki przedstawiono jako 2,5-ty i 97,5-ty percentyl z 95% przedziałem ufności.

Wyniki

W Tabeli 1. przedstawiono granice zakresu wartości referencyjnych dla LSRB jako 2,5-ty i 97,5-ty percentyl z 95% przedziałem ufności (CI). Rozkład prawdopodobieństwa danych pierwotnych oraz po przekształceniu logarytmicznym nie był zgodny z rozkładem Gaussa dla obu płci, za wyjątkiem osób powyżej 70. roku życia. Zarówno dla kobiet jak i mężczyzn wykonano test Manna-Whitney'a dla danych otrzymanych przez grupowanie wszyst-

kich pacjentów w dziewięć różnych podklas związanych z wiekiem. Istotne różnice stwierdzono w czterech grupach wiekowych, a mianowicie w grupie dzieci poniżej 14. roku życia porównanej z dorosłymi poniżej 50. roku życia ($p < 0,005$), pomiędzy tą grupą a osobami w wieku pomiędzy 50. a 70. rokiem życia ($p < 0,005$) i wreszcie pomiędzy ostatnią grupą a osobami powyżej 70. roku życia ($p < 0,05$). Różnice związane z płcią były następnie szacowane przy pomocy jednokierunkowej analizy wariancji. Różnice dla płci okazały się istotne dla dwóch grup wiekowych, mianowicie od 15. do 50. roku życia ($p < 0,0001$) i od 50. do 70. roku życia ($p < 0,01$), podczas gdy różnice te nie były znaczące u dzieci ($p = 0,77$) lub osób powyżej 70. roku życia ($p = 0,13$). Dlatego wyliczyliśmy 2,5-ty i 97,5-ty (dolny i górny) percentyl i 95% przedział ufności dla wyżej wymienionych sześciu klas i czterech grup wiekowych. Odnośnie zależności pomiędzy wartościami stężenia fibrynogenu a LSRB stwierdzono znaczącą korelację we wszystkich grupach wiekowych i płci ($p < 0,0001$), co przedstawiono na Rycinie 1. Ponadto potwierdziliśmy, że wartości stężenia fibrynogenu rosły z wiekiem, a średnie $\pm$ sd stę-

żenia fibrynogenu (g/L) wynosiło odpowiednio $3,1 \pm 0,51$, $3,4 \pm 0,49$, $3,8 \pm 0,53$ dla grup od 15. do 50. roku życia, od 51. do 70. roku życia oraz powyżej 70. roku życia ($p < 0,001$). Rycina 2. wskazuje na brak istotnej korelacji pomiędzy wartościami LSRB i stężeniem hemoglobiny. Również nie stwierdzono znaczącej korelacji pomiędzy objętością frakcji erytrocytów, za wyjątkiem starszych pacjentów (>70 . roku życia), u których LSRB było wyższe, podczas gdy stężenie hemoglobiny i objętość frakcji erytrocytów zmalały ($p < 0,05$).

Na koniec przez mnożenie wartości LSRB nierozcieńczanych próbek z K₂EDTA uzyskanych w aparacie TEST 1™ używając współczynnik zamiany zalecany przez ICSH stwierdziliśmy, że wyniki były porównywalne z wynikami otrzymanymi metodą Westergrena w rozcieńczanych próbkach przedstawionymi w piśmiennictwie.

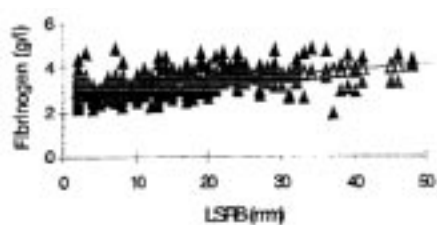
Dyskusja

LSRB używane jest jako wskaźnik stanu zapalnego, infekcji, urazu lub choroby nowotworowej, jednak dyskusja na temat klinicznej przydatności LSRB jest nadal otwarta. Ostatnio obliczono wartości predykcyjne dodatnich wyników dla rozpoznania chorób tkanki łącznej – wartości to 35% dla LSRB, 49% dla czynników reumatoidalnych i 29% dla przeciwciał przeciwjadrowych⁽⁹⁾. LSRB jest równie dobre jak stężenie CRP w surowicy do wykrywania składników reakcji ostrej fazy i może być włączone z białkiem szoku cieplnego 70 (hsp 70) do diagnostycznego panelu oznaczeń dla autoimmunologicznej choroby ucha wewnętrznego⁽¹⁰⁾. LSRB jest również uznane jako marker do monitorowania postępu łuszczykowego zapalenia stawów⁽¹¹⁾. W badaniu przeprowadzonym przez American College of Rheumatology, LSRB, stężenie CRP w surowicy oraz lepkość osocza okazały się równie przydatne w prognozowaniu wyników leczenia wczesnego reumatoidalnego zapalenia stawów⁽¹²⁾. Wydaje się, że główne problemy z interpretacją wartości LSRB w praktyce klinicznej wynikają z braku danych referencyjnych dla osób powyżej 70. roku życia oraz z przyjmowania wartości referencyjnych otrzymanych przy użyciu metody Westergrena w laboratoriach, które stosują

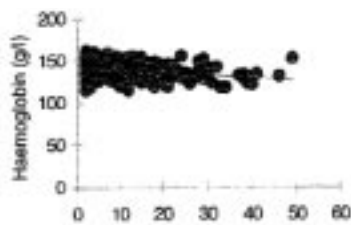
Tab. 1. Granice zakresu wartości referencyjnych, 2,5-ty i 97,5-ty percentyl i 95% przedziały ufności (CI) dla LSRB w nierozcieńczonej krwi antykoagulowanej EDTA. Zmienność dla wieku i płci.

Wiek (rok życia)	n	Płeć	2,5-ty percentyl i 95% CI	97,5-ty percentyl i 95% CI
0–14	80	K i M	2(2–2)	34(26–41)
15–50	190	kobiety	2(2–2)	37(36–39)
15–50	150	mężczyźni	2(2–2)	28(20–30)
51–70	120	kobiety	2(2–3)	39(38–45)
51–70	130	mężczyźni	2(2–2)	37(31–44)
>70	170	K i M	3(3–3)	46(45–55)

K: kobiety; M: mężczyźni.



Ryc. 1. Korelacja pomiędzy wartościami LSRB i stężeniem fibrynogenu. U zdrowych osób stężenie fibrynogenu rośnie z wiekiem, a korelacja jest znacząca ($r = 0,49$, $p < 0,0001$).



Ryc. 2. Korelacja wartości LSRB ze stężeniem hemoglobiny. Wykazano, że korelacja była istotna jedynie dla osób powyżej 70. roku życia ($r = -0,32$, $p < 0,05$).

znacznie różne techniki. Powszechnie wiadomo, że podstawowymi technikami do pomiaru LSRB są metody Westergrena i Wintroba. W szczególności NCCLS i ICSH zalecają stosowanie jako metody referencyjnej modyfikacji techniki Westergrena wykorzystującej nierozcieńczone próbki pobrane na K₃EDTA⁽³⁾. W ostatnich latach rozważania na temat obciążenia pracą i bezpieczeństwa poskutkowały wprowadzeniem do laboratoriów zautomatyzowanych metod pomiaru LSRB. W szczególności zamknięte zautomatyzowane systemy do pomiaru LSRB ograniczają pracę z krwią i minimalizują ryzyko kontaktu z materiałem potencjalnie zakaźnym, podczas gdy automatyzacja znacznie redukuje czas przetwarzania obniżając koszty. Przeprowadzono jedynie kilka badań w celu sprawdzenia wydajności różnych zautomatyzowanych systemów do pomiaru LSRB przez porównanie ich związku z pierwotną metodą Westergrena, przez ustalenie odpowiednich zakresów wartości referencyjnych i przez ocenę wpływu różnych antykoagulantów. W praktyce klinicznej nierozcieńczona próbka ma wiele zalet, a w szczególności: a) jest to próbka referencyjna zalecana przez NCCLS i ICSH, b) redukuje ryzyko występowanie błędów przed analizą i w szczególności możliwość niewłaściwej proporcji krew/antykoagulant, c) umożliwia pomiar LSRB co najmniej 24 godziny po pobraniu próbki, d) umożliwia pomiar LSRB i innych oznaczeń hematologicznych (liczby erytrocytów, leukocytów, retikulocytów itp. w tej samej próbce krwi, w ten sposób upraszczając cykl pracy w sekcji hematologicznej laboratorium⁽¹³⁾.

Uważamy, że obecnie wiele laboratoriów stosuje granice zakresu wartości referencyjnych zaczerpnięte z piśmiennictwa i otrzymane przy pomocy kilku procedur, jak metoda Westergrena z lub bez modyfikacji, w rozcieńczonych próbkach⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

Mając na uwadze powyższe, celem naszej pracy było ustalenie granic wartości referencyjnych dla LSRB z zastosowaniem zautomatyzowanej procedury pomiaru, która umożliwia bardzo szybki, precyzyjny i dokładny pomiar również w nierozcieńczonych próbkach krwi. Jednakże nasze dane mają wartość również dla laborato-

riów, w których nadal używa się próbki pobieranej na cytrynian sodu. Faktycznie, przez mnożenie wartości LSRB uzyskanych w nierozcieńczonych próbkach pobranych na K₃EDTA przez współczynnik zamiany zalecany przez ICSH stwierdziliśmy, że wyniki były podobne do przedstawionych w piśmiennictwie, przynajmniej we wcześniejszych opisywanych grupach wiekowych.

Podsumowując, wykazaliśmy, że LSRB wzrasta z wiekiem i wartości referencyjne dla czterech grup wiekowych i płci. Zgodnie z naszą wiedzą, to jest pierwsza praca przedstawiająca zakresy wartości referencyjnych dla osób powyżej 70. roku życia. Wzrost LSRB wydaje się być powiązany z zmianą stężenia fibrynogenu, która zwiększa prędkość opadania erytrocytów. Jeżeli zmiany związane z wiekiem mają wpływ na wskaźniki biologiczne, rzetelny zakres wartości referencyjnych dla pacjentów geriatrycznych byłby klinicznie użyteczny, aby obniżyć liczbę fałszywie pozytywnych wyników i poprawić ich swoistość.

Źródło: Clin Chem Lab Med 2001; 39(5):451-454. © by Walter de Gruyter • Berlin • New York

Piśmiennictwo

1. Wolfe F, Michaud K. The clinical and research significance of the erythrocyte sedimentation rate. *J Rheumatol.* 1994;21:1177-8.
2. Brigden ML, Heathcote JC. Problems in interpreting laboratory tests. What do unexpected results mean? *Postgrad Med.* 2000;107:145-7.
3. Stevens D, Tallis R, Hollis S. Persistent grossly elevated erythrocyte sedimentation rate in elderly people: one year follow-up of morbidity and mortality. *Gerontology* 1995;41:220-6.
4. International Committee for Standardization in Haematology. Recommendation for measurement of erythrocyte sedimentation rate of human blood. *Am J Clin Path* 1977; 66:505-7.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference procedure for erythrocyte sedimentation rate (ESR) test. In *Approved standard; NCCLS document H2-A3 Villanova; NCCLS*, 1993.

6. Plebani M, De Toni S, Sanzari MC, Bernardi D, Stockreiter E. The TEST1 automated system: a new method for measuring the erythrocyte sedimentation rate. *Am J Clin Path* 1998; 110:334-40.
7. PetitClerc C, Solberg HE. Approved Recommendation on the theory of reference values. Part2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25:639-44.
8. Solberg HE. Approved Recommendation on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25:645-56.
9. Suarez Almazor ME, Gonzalez Lopez L, Gamez Nava JJ, Belseck E, Kendall CJ, Davis P. Utilization and predictive value of laboratory tests in patients referred to rheumatologists by primary care physicians. *J Rheumatol* 1998; 25:1980-5.
10. Hirose K, Wener MH, Duckert LG. Utility of laboratory testing in autoimmune inner ear disease. *Laryngoscope* 1999; 109:1749-54.
11. Gladman DO, Farewell VT. Progression in psoriatic arthritis: role of time varying clinical indicators. *J Rheumatol* 1999; 26:2409-13.
12. Paulus HE, Ramos B, Wong WK, Bulpitt K, Park G, Sterz M, et al. Equivalence of the acute phase reactants C-reactive protein, plasma viscosity, and Westergren erythrocyte sedimentation rate when used to calculate American College of Rheumatology 20% improvement criteria or the disease activity score in patients with early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999; 26:2324-31.
13. Plebani M, Piva E, Sanzari MC. Reply to method of comparison of automated systems for the erythrocyte sedimentation rate and more study needed [letter]. *Am J Clin Path* 1999; 112:721-4.
14. Wetteland P, Roger M, Solberg HE, Iversen OH. Population-based erythrocyte sedimentation rates in 3910 subjectively healthy Norwegian adults. A statistical study based on men and women from the Oslo area. *J Intern Med* 1996; 240:125-31.
15. Bottinger LE, Svedberg CA. Normal erythrocyte sedimentation rate and age. *Br Med J* 1967; 2:85-7.
16. Caswell M, Pike LA, Bull BS, Stuart J. Effect of patient age on tests of the acute-phase response. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117:906-10.

Diagnostyka molekularna zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV)

Długotrwałe zakażenie wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV) jest główną przyczyną raka szyjki macicy oraz jego prekursora – neoplazji śródnamionkowej szyjki macicy (CIN, *cervical intraepithelial neoplasia*). Zakażenia wirusem HPV można domniemywać w ponad 99% przypadków raka szyjki macicy na całym świecie³. HPV jest małym wirusem pozbawionym otoczki, zawierającym dwie nici DNA, którego genom składa się z około 8000 nukleotydów. Istnieje przeszło 100 różnych genotypów wirusa HPV, w tym około 40 genotypów HPV, które mogą zakażać błonę śluzową narządów płciowych człowieka. Jednak tylko część spośród wspomnianych genotypów wirusa przenoszonych drogą płciową jest związana z dysplazją wysokiego stopnia oraz rakiem szyjki macicy. Nazywane są one genotypami HPV wysokiego ryzyka, podczas gdy genotypy HPV niskiego ryzyka często wiążą się z łagodnymi zmianami śródnamionkowymi niższego stopnia lub z rozwojem kłykcin kończystych. Zakażenie wirusem HPV przenieszone drogą płciową jest niezwykle częste, przy szacunkowej zapadalności dochodzącej do 75% wszystkich kobiet narażonych na ekspozycję na wirusa. Większość zakażeń HPV ulega samoistnemu wyleczeniu, lecz przetrwałe zakażenie wirusami HPV wysokiego ryzyka stanowi znaczące czynniki ryzyka rozwoju raka szyjki macicy. W krajach rozwiniętych, prowadzących przesiewowe programy wykrywania raka szyjki macicy, od połowy lat 1950 stosuje się rozmaz Pap (nazwany od nazwiska dr George'a Papanicolaou) jako podstawowe narzędzie wykrywania wczesnych prekursorów raka szyjki macicy. Chociaż badanie to spektakularnie zmniejszyło w tych krajach wskaźniki umieralności z powodu raka szyjki macicy, to jednak rozmaz Pap wymaga interpretacji przez bardzo doświadczonego cytopatologa i jest to test o relatywnie niskiej dokładności z wysokim odsetkiem wyników fałszywie ujemnych. Nieprawidłowe cechy budowy cyto-

logicznej, obserwowane w rozmazie Pap, są wywoływane przede wszystkim przez infekcję wirusem HPV, jednakże różnorodne zmiany o podłożu zapalnym, bądź związane ze sposobem pobierania próbek, mogą skutkować fałszywie dodatnimi wynikami rozmazu Pap. W przypadku nieprawidłowego wyniku rozmazu Pap postępowanie z wyboru obejmuje: powtórzenie badania, kolposkopię oraz biopsję. Histologicznie potwierdzone zmiany wysokiego stopnia wymagają usunięcia chirurgicznego w celu zapobieżenia rozwojowi inwazyjnego raka szyjki macicy. Wirus brodawczaka ludzkiego jest niezwykle trudny do hodowania *in vitro*, przy tym nie wszyscy pacjenci zakażeni HPV wykazują możliwą do zaobserwowania reakcję z wytworzeniem przeciwciał. Z tego względu badanie kwasu nukleinowego (DNA) za pomocą reakcji PCR jest czułą i nieinwazyjną metodą stwierdzenia obecności czynnego zakażenia szyjki macicy wirusem HPV. Znane zastosowania testu genotypowego HPV obejmują ocenę pojawiania się i zanikania określonych typów HPV; swoisty dla typu monitoring upórcozości występowania genotypów związanych z wyższym ryzykiem schorzeń i karcinogenezy szyjki macicy; ocenę skuteczności leczenia chirurgicznego, radioterapii lub chemioterapii zmian chorobowych związanych z wirusem HPV (test wyleczenia); genotypowanie w ramach wybranych programów przesiewowych przed i po wprowadzeniu szczepionki; oraz ułatwienie przeprowadzania badań epidemiologicznych dotyczących naturalnej historii zakażeń HPV.

Badania przesiewowe

Test jakościowy AMPLICOR Human Papilloma Virus (HPV) służy do diagnostyki *in vitro* wirusa brodawczaka ludzkiego w próbkach klinicznych. Test wykorzystuje amplifikację fragmentu DNA za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) i hybrydizację kwasów nukleinowych do

wykrywania genotypów wysokiego ryzyka (HR) HPV DNA; 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 i 68 w komórkach szyjki macicy pobranych do płynnego podłoża transportowego.

Czułość i swoistość testu AMPLICOR HPV na obecność genotypów DNA HPV wysokiego ryzyka w próbkach pobranych z szyjki macicy na podłoże transportowe PreservCyt®:

- Czułość kliniczna: 96%,
- Swoistość kliniczna: 89%

Genotypowanie Identyfikuje 37 genotypów wirusa brodawczaka ludzkiego

Test LINEAR ARRAY HPV (*Human Papilloma Virus*) Genotyping Test jest jakościowym testem *in vitro*, służącym do wykrywania wirusa brodawczaka ludzkiego w próbkach klinicznych. Test wykorzystuje amplifikację docelowego DNA na drodze polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR) oraz hybrydizacji kwasu nukleinowego i wykrywa trzydzieści siedem anogenitalnych genotypów DNA HPV [6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 (MM9), 81, 82 (MM4), 83 (MM7), 84 (MM8), IS39 oraz CP6108] w komórkach szyjki macicy pobranych na roztwór PreservCyt® Solution.

Test pozwala na wykrycie i rozróżnienie 37 genotypów wirusa HPV, pozwala wykryć infekcje wieloma genotypami HPV, umożliwia monitorowanie przebiegu zakażenia wielogenotypowego, jest niezbędny w badaniach nad szczepionkami i zbieraniu danych epidemiologicznych.

W związku z faktem, że przetrwałe zakażenie wywołane wirusem brodawczaka ludzkiego o typie onkogennym jest najważniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju raka szyjki macicy należy podkreślić, że zarówno badanie cytologiczne, jak i test na obecność onkogenego typu HPV są wzajemnie uzupełniającymi się elementami pierwotnego skryningu raka szyjki macicy.

Podstawowym zastosowaniem wtórnym diagnostyki wirusologicznej jest weryfikacja wyniku cytologicznego wskazującego na obecność atypowych komórek nabłonka (*atypical squamous cells of unknown significance* – ASC-US). Pozytywny test na obecność HPV typu onkogennego wskazuje na konieczność wykonania kolposkopii. Rola przetrwałego zakażenia wywołanego przez HPV – typ onkogeny dla rozwoju patologii szyjki macicy wskazuje na pilną potrzebę tworzenia pracowni diagnostyki wirusologicznej działających przy regionalnych ośrodkach koordynujących program profilaktyki raka szyjki macicy⁶.

Najważniejsza w oszacowaniu ryzyka raka szyjki macicy jest dokładna informacja o HPV.

Innowacje

Chlamydia

COBAS TaqMan CT Test (CE-IVD)
Automatyczna amplifikacja i detekcja *Chlamydia trachomatis* techniką PCR w czasie rzeczywistym (*real time PCR*)

COBAS AMPLICOR CT/NG Test
Wykrywa *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* wykorzystując automatyczny analizator COBAS AMPLICOR

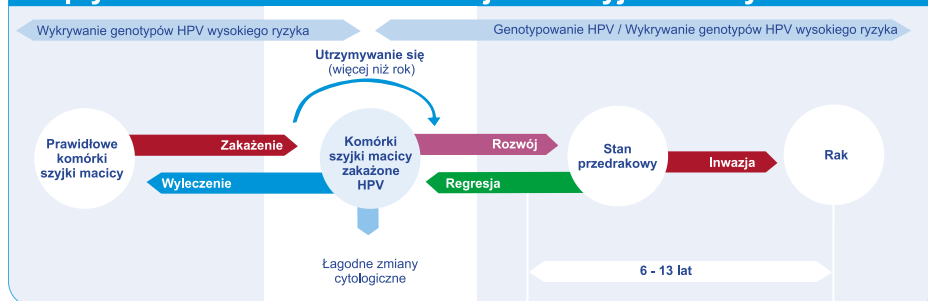
AMPLICOR CT/NG Test

Wykrywa *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* wykorzystując manualny format detekcji na mikropłytkach

Piśmiennictwo

1. Eileen M. Burd. 2003. Human Papillomavirus and Cervical Cancer, *Clinical Microbiology Reviews* 16: 1-17.
2. Harald zur Hausen, 2002, *Papillomavirus and Cancer: from Basic Studies to Clinical Application*. *Nat Rev Cancer* 2 (5): 342-350.
3. Walboomers J, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999; 189: 12-19.
4. Sherman et al, Baseline Cytology, HPV testing, and risk for cervical neoplasia, *Journal of The National Cancer Institute*, Vol 95, No1, Jan 1, 2003; 46-52.
5. Susanne K Kjaer, Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study, *BMJ VOLUME* 325 14 SEPTEMBER 2002.
6. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego.

Wpływ zakażenia HPV na rozwój raka szyjki macicy



AMPLICOR HPV Test

Produkt		Numer katalogowy
AmpliLute Liquid Media Extraction Kit	(50 oznaczeń)	03750540190
AMPLICOR HPV Controls Kit	(4 komplety)	03610756190
AMPLICOR HPV Amplification Kit	(96 oznaczeń)	03610799190
AMPLICOR HPV Detection Kit	(96 oznaczeń)	03610721190

System szybkiej diagnostyki kardiologicznej

Cardiac reader dołącza do marki cobas®.

W roku 2007 do marki **cobas** dołączy nowy system **cobas h 232** zaprojektowany do szybkiej diagnostyki kardiologicznej.

cobas h 232 jest nowatorskim urządzeniem do ilościowej oceny markerów kardiologicznych: troponiny T, mioglobiny, dimeru D, NT-pro BNP, CK-MB.

Różnorodność testów służy do szerokiej diagnostyki chorób serca.



cobas h 232

Ocena testu za pomocą systemu **cobas h 232**, podobnie jak w przypadku poprzednika Cardiac reader łączy w sobie zalety możliwości szybkiego postawienia rozpoznania z ilościowym monitorowaniem parametrów istotnych klinicznie.

Pomiar można przeprowadzać w miejscu pobrania krwi.

Do wykonania badania z użyciem aparatu **cobas h 232** potrzebne są:

- 150 µl pełnej krwi żyłnej pobranej na antykoagulant heparynę
- pipeta laboratoryjna lub dozownik strzykawkowy firmy Roche
- odpowiedni test paskowy.

Czas od momentu pobrania próbki do otrzymania wyniku nie przekracza 15 minut.

System idealnie sprawdza się nie tylko w szpitalach, również w gabinecie lekarza rodzinnego, oraz laboratorium.

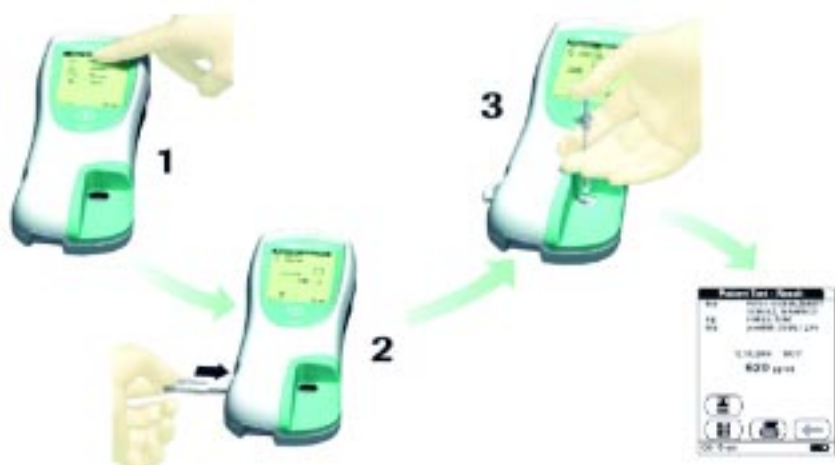
Możliwość wykonywania badań laboratoryjnych w czasie i miejscu kontaktu lekarza z pacjentem (ang. nazwa „*point of care testing*” – POCT) stanowi atrakcyjną alternatywę dla tradycyjnego sposobu wykonywania badań w laboratorium.

System poprzedniej generacji Cardiac reader w ostatnich latach znalazł szereg zastosowań czasem zastępując, ale też często uzupełniając ofertę diagnostyki laboratoryjnej.

System **cobas h 232** wyposażony jest w wiele nowatorskich rozwiązań ułatwiających obsługę:

- duży dotykowy ekran z graficznymi komunikatami
- pamięć wyników, kontroli, ID użytkowników i pacjentów
- system zarządzania i archiwizacji danych
- port podczerwieni umożliwiający bezprzewodowe komunikowanie z urządzeniami zewnętrznymi np. drukarką, komputerem
- zestaw baterii akumulatorowych umożliwiających wykonanie badań niemalże w każdym miejscu
- wbudowany czytnik kodów kreskowych.

Następca aparatu Cardiac reader – analizator **cobas h 232** stanowi idealne rozwiązanie w POCT ułatwiając, oraz przyspieszając podjęcie właściwej decyzji klinicznej.



Sposób wykonania oznaczenia

Wielka Orkiestra Świątecznej Pomocy

14 stycznia 2007 miał miejsce XV Finał Wielkiej Orkiestry Świątecznej Pomocy. Pierwszy Finał odbył się 3 stycznia 1993 i od tamtej pory raz do roku na początku stycznia odbywa się całodzienna zbiórka pieniędzy na terenie całej Polski i za granicą. Pieniądze są zbierane przez wolontariuszy do specjalnie oznakowanych skarbonek, są wypłacane przez darczyńców systemem telefonicznym z ich kart kredytowych oraz trafiają na konto Fundacji dzięki licznym aukcjom internetowym, na których można licytować różnorakie oryginalne i niepowtarzalne przedmioty, подарowane przez sławne osobistości. Całość Finału jest pokazywana bezpośrednio przez Telewizję Polską, a granie Wielkiej Orkiestry to pikniki, festyny i setki koncertów w salach,



Punkt bezpłatnych pomiarów poziomu glukozy

klubach i na wolnym powietrzu w całym kraju. Podczas czternastu dotychczasowych Finałów Fundacja zebrała 220 mln złotych, za które zakupiła sprzęt m.in. do ratowania i diagnostyki noworodków i niemowląt, dzieci z wadami serca i dzieci poszkodowanych w wypadkach oraz sprzęt przeznaczony do nauki pierwszej pomocy.

Podczas tegorocznego XV-go Finału Fundacja Wielkiej Orkiestry Świątecznej Pomocy położyła szczególny nacisk na problem cukrzycy w Polsce. W naszym kraju ok. 2 mln osób choruje na cukrzycę, a lekarze diabetolodzy na całym świecie biją na alarm, nazywając cukrzycę epidemią. Dane statystyczne potwierdzają ten fakt: w 2002 roku na świecie odnotowano 177 mln osób z cukrzycą. Według prognoz, w 2010 roku ma chorować już 240 mln osób.

Fundacja zapoczątkowała nową akcję, mającą na celu zwrócenie uwagi na problemy diabetyków, mianowicie akcję „Policz się z cukrzycą”.

Jednym z niezwykle istotnych elementów pomagających żyć diabetikom jest pełna informacja dotycząca żywności, którą spożywają. Każda osoba chorująca na cukrzycę, żeby móc obliczyć właściwie ilość insuliny, jaką należy podać przy spożyciu posiłku, musi dokładnie znać ilość wymienników węglowodanowych i białkowo-tłuszczowych zawartych w produktach, które zjada.

Trzustka zdrowego człowieka wydziela insulinę automatycznie, idealnie dobierając potrzebne ilości. Dzięki temu ma on zawsze prawidłowe stężenie cukru we krwi – nie robi mu się słabo z powodu hipoglikemii (czyli zbyt niskiego stężenia glukozy), czy z powodu hiperglikemii (zbyt wysokiego stężenia glukozy), które niszczą organy wewnętrzne. Leczenie cukrzycy polega na utrzymywaniu wartości glikemii takich jak u zdrowego człowieka, a to jest bardzo trudne. Wiele osób z cukrzycą szacuje zawartość wymiennikową „na oko”, przez co popełnia błędy doprowadzając do niepożądanych i niebezpiecznych dla zdrowia i życia wzrostów lub spadków – hipo- lub hiperglikemii. Im dokładniejsze obliczenia, tym mniej pomyłek.

W wielu krajach na świecie firmy produkujące żywność przyszły diabetikom



Bieg na znak solidarności z ludźmi z cukrzycą

z pomocą, drukując potrzebne informacje na opakowaniach produktów.

Fundacja Wielkiej Orkiestry Świątecznej Pomocy zwróciła się do czołowych polskich producentów żywności, aby wzięli krok ku ułatwieniu życia tym, którzy muszą żyć z cukrzycą, poprzez umieszczenie na opakowaniach produktów żywnościowych informacji o Wymiennikach Węglowodanowych i Białkowo-Tłuszczowych. Niezmiennie pomogłoby to zarówno dzieciom, jak i osobom dorosłym z cukrzycą mierzyć się z tą trudną chorobą.

Na każdym opakowaniu zostanie umieszczone małe, orkiestrowe serduszko z napisem „Policz się z cukrzycą”, oraz dodatkowa linijka tekstu, w której znajdowa-

łyby się niezbędne dane, np.: zawartość wymienników w 100 gr: WW (wymienniki węglowodanowe) 1,2 WBT (wymienniki białkowo-tłuszczowe) 1,4 w opakowaniu: WW 2,5 WBT 2,8.

W dniu Finału, w ramach akcji „Policz się z cukrzycą”, firma Roche Diagnostics zorganizowała bezpłatne badania stężenia glukozy we krwi (Zdj. 1.). W ciągu zaledwie pięciu godzin przebadano ponad 300 osób. Ok. 10% badanych osób miało poziom glukozy znacznie przekraczający dopuszczalną normę! W tym dniu odbył się bieg, w którym wzięło udział 1796 osób, które pragnęły wyrazić swoją solidarność z blisko dwumilionową społecznością polskich diabetyków (Zdj. 2.). Trasa biegu liczyła ok. 4 km, a symboliczna licz-



Pompa insulinowa Accu-Chek Spirit

ba jego uczestników oznacza liczbę pomp insulinowych zakupionych do tej pory przez Fundację w ramach Programu Leczenia Dzieci Osobistymi Pompami Insulinowymi.

W jego ramach w ubiegłym roku Fundacja zakupiła od Roche Diagnostics 200 pomp insulinowych Accu-Chek Spirit, które zostały następnie ofiarowane dzieciom z ośrodków diabetologicznych w Białymstoku, Bydgoszczy, Gdańsku, Katowicach, Kielcach, Krakowie, Lublinie, Łodzi, Olsztynie, Opolu, Poznaniu, Radomiu, Rzeszowie, Szczecinie, Toruniu, Warszawie, Wrocławiu. Dzięki temu dzieci już od wczesnych lat życia mają zapewnioną najbardziej skuteczną formę terapii, która

pozwoi im swobodnie funkcjonować i pomoże zabezpieczyć się przed późnymi powikłaniami cukrzycowymi w starszym wieku.

Źródło: www.wosp.org.pl



Uczestnicy biegu