

A photograph of a young child with blonde hair, wearing a white and blue winter jacket, a silver helmet, and riding a light blue scooter on a grassy field. The image is partially framed by a large white circle at the top and a large yellow curved shape at the bottom.

cobas

Life needs answers

Nr
24

ISSN 1644-8448

nakład: 1000 egz.

Lab*Forum*

Międzynarodowe Forum IVD
w Atenach



Diagnostics



Forum IVD w Atenach



Diagnostics

Szanowni Państwo,

Pragnę podzielić się informacjami nt. ważnego wydarzenia, jakie miało niedawno miejsce. Na początku czerwca z inicjatywy firmy Roche Diagnostics zorganizowano I Europejskie Forum IVD, w celu przedyskutowania najnowszych osiągnięć w tej dziedzinie.

Spotkanie to miało zasięg zarówno międzynarodowy, jak i interdyscyplinarny, dotyczyło diagnostyki ze zwróceniem szczególnej uwagi na kraje Europy Centralnej i Wschodniej. Główną przesłanką organizacji Forum IVD był fakt, że Europa, jak i sama Unia Europejska otwiera wiele możliwości zarówno w dziedzinie biznesu, jak i współpracy naukowej. Opieka zdrowotna korzysta z wielu nowych możliwości, zwłaszcza w zakresie diagnostyki molekularnej. Na przykład AmpliChip – nowy test firmy Roche Diagnostics określa zdolność konkretnego pacjenta do metabolizowania niektórych leków. Dzięki takiej wiedzy można zalecić leczenie i dobór dawki leku w o wiele wyższym stopniu dopasowania do indywidualnych potrzeb pacjenta. Pozwala to zarówno na znaczną redukcję kosztów wynikających z nieodpowiedniego leczenia, jak też jest w stanie oszczędzić pacjentowi dyskomfortu związanego z wystąpieniem ewentualnych działań ubocznych leku. W momencie, gdy wydatki na opiekę zdrowotną w krajach europejskich zaczynają się kurczyć, aspekt ten ma bardzo istotne znaczenie.

Podczas Forum spotkali się eksperci z różnych dziedzin i różnych krajów w celu wymiany spostrzeżeń i poglądów dotyczących diagnostyki. Mówcy, którzy zabrali głos są pracownikami instytucji, takich jak szpitale, szkoły wyższe, firmy, laboratoria lub instytucje.

Forum dało zarówno możliwość spojrzenia na te zagadnienia pod różnym kątem, jak i możliwość porównania perspektywy, z jakiej postrzega się je w różnych krajach Europy.

Oprócz czysto naukowej wymiany poglądów spotkanie dało sposobność do przedyskutowania kwestii poprawy jakości badań diagnostycznych i zwiększenia ich zbieżności z wytycznymi Komisji Europejskiej dotyczącymi diagnostyki *in vitro*.

Szczegółową relację z tej konferencji znajdą Państwo w tym numerze LabForum.

Spis treści:

Forum IVD w Atenach	2
Porównanie automatycznego liczenia leukocytów w płynie mózgowo-rdzeniowym z metodą tradycyjną przy wykorzystaniu analizatora hematologicznego SYSMEX XE-2100, cz. I	3-5
Badania oznaczeń markerów sercowych w Wielkiej Brytanii, cz. II	6-7
Rola wirusów brodawczaka w karcinogenezie szyjki macicy, cz. II	8-9
Międzynarodowe Forum IVD	10-11
Roche Omni C = cobas b 121	12

Z poważaniem,

Andrzej Banaszkiewicz

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

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

Porównanie automatycznego liczenia leukocytów w płynie mózgowo-rdzeniowym z metodą tradycyjną

przy wykorzystaniu analizatora hematologicznego SYSMEX XE-2100, cz. I

Cel: Przedstawienie i omówienie wyników z automatycznego liczenia leukocytów w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) u pacjentów neurologicznych przy użyciu analizatora hematologicznego Sysmex XE-2100.

Metody: Liczba leukocytów została określona w 226 świeżych próbkach PMR (najpóźniej w ciągu 2 godzin od pobrania) w metodzie komorowo-mikroskopowej (metoda referencyjna) i w kanałach DIFF i WBC/Baso XE-2100. Walidacja metody obejmowała pomiar liniowości i korelacji z określeniem precyzji i czułości metody w porównaniu do referencyjnej metody mikroskopowej. Tabela prawdopodobieństwa fałszywego odrzucenia została skonstruowana dla próbek o prawidłowym składzie – dla pomiarów mniejszych niż 5 leukocytów/ μL i dla próbek nieprawidłowych o cytozie większej niż 4 leukocyty/ μL dla XE-2100 i metody referencyjnej. Ponadto porównano różnicowanie leukocytów na leukocyty o jądrze polimorficznym (PMN = neutofile, eozynofile, basofile) i leukocyty jednojądrzaste (MN = monocyty, limfocyty) przez analizator z mikroskopową oceną (tylko $n = 30$) barwionych cytopreparatów.

Wyniki: W ocenie powtarzalności wyników z kanałów XE-2100, jak i metody manualnej, uzyskano prawie takie same wyniki 46% i 37%, dla bardzo małych wartości leukocytozy (2 komórki/ μL). Dla wyższych pomiarów leukocytozy wyniki z kanału DIFF były większe od wyników uzyskanych metodą manualną (dla leukocytozy około 50/ μL 9% i 15%; dla leukocytozy około 500/ μL 4% i 9%). Powtarzalność wyników pomiarów dla kanału DIFF jest zdecydowanie lepsza niż w kanale WBC/Baso. Liniowość i badanie wpływu tła dały doskonałe wyniki dla obu kanałów. Pomiarzy z XE-2100 wykazały doskonałą korelację z metodą mikroskopową dla wartości leukocytozy w przedziale 0–3000/ μL . W niższym zakresie niż 50 komórek/ μL kanał DIFF wykazał dobrą kore-

lację z metodą mikroskopową w przeciwieństwie do pomiarów z kanału WBC/Baso, które nie wykazały tak dobrej zależności. Tabela prawdopodobieństwa fałszywego odrzucenia wykazała, że pomiary z kanału DIFF przewyższają jakością pomiary z kanału WBC/Baso, szczególnie w decyzyjnym punkcie dla cytozy > 4 WBC/ μL .

W różnicowaniu leukocytów na komórki PMN i MN z wykorzystaniem kanału DIFF uzyskano bardzo dobrą korelację $R^2=0,893$ i $R^2=0,850$, ale tylko dla małej liczby próbek $n=30$.

Wnioski: Określenie liczby leukocytów w PMR z wykorzystaniem kanału DIFF XE-2100 ma dobrą korelację z metodą mikroskopową. Nie znaleziono żadnych przypadkowych nieprawidłowych wyników w zakresie wyników prawidłowych, nie jest więc możliwe aby zostały pominięte patologiczne pleocytozy. Zostało jednak przyjęte, że jest możliwe otrzymanie około 3% fałszywie pozytywnych wyników. Jest to ważna informacja dla prowadzącego lekarza, aby był świadomy prawidłowej interpretacji danych. Z klinicznego punktu widzenia, zautomatyzowany pomiar leukocytozy w PMR w kanale DIFF XE-2100 pod względem jakości jest absolutnie wystarczający na wdrożenie odpowiedniego leczenia pacjenta.

Różnicowanie leukocytów na komórki z jądrem polimorficznym – PMN i mononukleary – MN zapowiada się obiecująco, ale wymaga oceny większej liczby przebadanych próbek.

Słowa kluczowe: płyn mózgowo-rdzeniowy, leukocytoza, automatyczny analizator hematologiczny, XE-2100, pomiar leukocytozy w kanale DIFF.

WSTĘP

We wszystkich szpitalach, w których są leczeni pacjenci w ostrym stanie neurologicznym muszą być szybko wykonywane pomiary podstawowych składników

PMR, takich jak: liczebność komórek (cytoza) stężenie białka i glukozy/mleczanów, o każdej porze dnia i nocy.

Cytoza jest kluczowym parametrem dla prawidłowej diagnostyki i klasyfikacji wielu chorób.

Prawidłowe wartości cytozy (< 5 leukocytów/ μL) mogą znacząco wpłynąć na rozpoznanie i opóźnić początek terapii. Fałszywie zwiększone wartości cytozy mogą prowadzić do nieprawidłowej diagnozy i niepotrzebnych procedur terapeutycznych.

Manualne/mikroskopowe liczenie liczby komórek w PMR jest czasochłonne, często nieprecyzyjne, wymaga nakładu pracy i doświadczenia, ale pozostaje „złotym standardem” wg NCCLS.

Do dnia dzisiejszego, zautomatyzowane metody liczenia cytozy PMR napotykały trudności w uzyskiwaniu prawidłowych wyników, szczególnie w próbkach, w których leukocytoza była mniejsza niż 50 komórek/ μL , w związku ze zliczaniem przez analizator pęcherzyków powietrza oraz innych zanieczyszczeń. Te problemy wpłynęły na fakt, że uznano automatyczne liczenie cytozy w PMR jako nieużyteczne, szczególnie w przypadkach, gdy u zdrowego człowieka cytoza jest mniejsza niż 5 komórek/ μL . W laboratorium oceniliśmy ostatnio możliwości nowego wieloparametrowego analizatora hematologicznego XE-2100 do pomiarów liczby komórek – leukocytów w PMR.

Wieloparametrowy analizator hematologiczny XE-2100, który wykorzystuje impedancję i cytometrię fluorescencyjną przepływową do różnicowania komórek krwi.

Pomiar liczby leukocytów (kanał WBC/Baso) jest dokonywany poprzez pomiar objętości komórki (przednie światło) i ocenę złożoności struktury (boczne światło) po fiksacji leukocytów. Rozdział leukocytów na populacje (DIFF kanał) jest określany przez pomiar stymulowanej fluorescencji i struktury komórek.

MATERIAŁY I METODY

W metodzie referencyjnej – manualnej, postępując zgodnie z procedurą w celu określenia cytozy najpóźniej w ciągu 2 godzin od pobrania próbek PMR, mieszano 10 µL kwasu octowego z 90 µL PMR. Do liczenia cytozy została użyta komora Fuchsa-Rosenthala (FR), w której policzono po sedymentacji wszystkie komórki na powierzchni wszystkich 16 kwadratów. Zastosowano zasady krawędziowe liczenia komórek: komórki dotykające lewą i dolną krawędź siatki zostały dodane do liczenia, a te dotykające prawej i górnej krawędzi zostały odrzucone. Jednostką była liczba leukocytów/µL.

Preparaty do oceny cytologicznej komórek PMR zostały przygotowane przez wirowanie w cytowirówce, zabarwione metodą May Grunwalda-Giemsy i ocenione w mikroskopie. Równolegle 130 µL nierozcieńczonego PMR zostało poddane analizie w analizatorze XE-2100. Liczba leukocytów (liczba/µL) była analizowana w dwóch różnych kanałach – WBC/Baso i DIFF. Wyniki pomiarów liczby leukocytów wzięto z ekranu obsługowego (serwisowego) jako: liczba leukocytów/µL – aby zapewnić odczyt konkretnych wyników niezbędne jest oprogramowanie XE-PRO.

Korelacja pomiarów leukocytozy w PMR

Przed pomiarami próbek pacjentów w analizatorze zawsze sprawdzano czystość tła w kanałach pomiarowych. Wszystkie 226 próbek PMR zostały poddane analizie w analizatorze XE-2100 tzw. sposobem otwartym-ręcznym z zastosowaniem profilu CBC+DIFF, a wyniki porównane z wynikami liczenia komorowego FR.

Zgodność między wynikami obu metod i dwoma różnymi kanałami z XE-2100 została poddana analizie regresji Passing-Babloka w trzech różnych zakresach

A: wszystkie wyniki 0–3000 WBC/µL

B: 0–50 WBC/µL

C: 51–1000 WBC/µL

Liniowość

Liniowość dla WBC została oznaczona wg protokołu NCCLS EP6.

Próbka PMR o cytozie około 500/µL została rozcieńczona fizjologicznym roztworem soli.

Zostały przygotowane rozcieńczenia PMR odpowiednio 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10%, 5%, 1% i poddane podwójnie analizie: metodą komorową (przygotowaną tą samą procedurą) i w analizatorze XE-2100 w kale DIFF i WBC/Baso przy podaniu próbek systemem ręcznym.

Precyzja

Trzy różne próbki PMR, z prawidłową cytozą < 5 leukocytów/µL, patologiczną cytozą (dokładnie 50 leukocytów/µL) i wysoce patologiczną (dokładnie 500 leukocytów/µL) zostały poddane analizie 10 razy poprzez liczenie metodą komorową (wykonane przez tego samego technika) i przez pomiary na XE-2100 w kanałach DIFF i WBC/Baso (próbki podawano w systemie otwartym). Zostały wyliczone współczynniki zmienności CV na każdy poziom liczenia i na każdą metodę.

Interferencja

Całkowity wpływ został określony dla pomiarów leukocytozy w analizatorze XE-2100 w obu kanałach pomiarowych DIFF i WBC/Baso na 3 próbkach pełnej krwi. Każdy pomiar został poprzedzony 3 pu-

stymi pomiarami czystości tła. Jakakolwiek interferencja została odnotowana jako liczba absolutna.

Proporcjonalna interferencja dla kanału WBC DIFF i kanału WBC/Baso została zmierzona używając metody Broughtona. Używając 3 próbek PMR z niską (n1–n3) i 3 próbek z wysoką (w1–w3) cytozą, możemy obliczyć procentowy udział wpływu tła wg wzoru:

$$\text{Wpływ (\%)} = \frac{n1-n3}{w3-n3} \times 100$$

Tabela prawdopodobieństwa fałszywego odrzucenia

Wyniki wszystkich próbek pacjentów (226) poddane analizie na analizatorze XE-2100 (CBC+DIFF profil) i policzone metodą referencyjną komorową FR zostały porównane w tabeli z wartością progową dla prawidłowych próbek < 5 WBC/µL wartością progową dla próbek patologicznych > 4 WBC/µL.

Metoda rozdziału różnicującego leukocyty

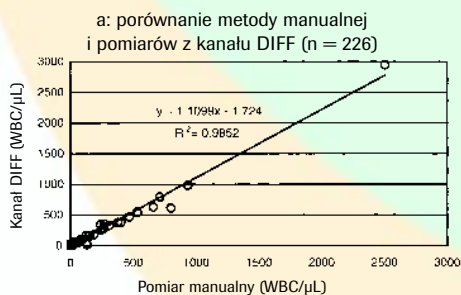
Poprzedzając analizę pomiarem czystości tła, zbadano próbki PMR (n=30) w analizatorze XE-2100 w kanale DIFF (wyniki z ekranu wyszukiującego) w otwartej me-

Tabela 1. Korelacja liczenia leukocytów w kanałach pomiarowych XE-2100 z referencyjną metodą liczenia w kamerze Fuchsa-Rosenthala w trzech zakresach

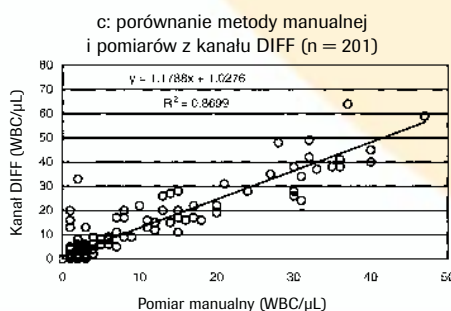
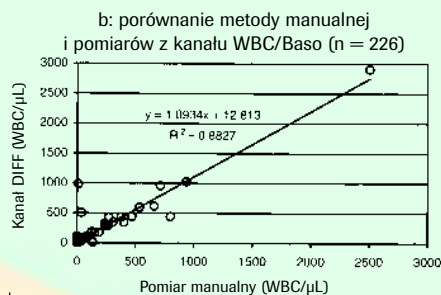
	A: WBC 0–3000//µL			B: WBC 0–50/µL			C: WBC 51–1000/µL		
	nachyl	R ²	n	nachyl	R ²	n	nachyl	R ²	n
WBC/BASO kanał	1,09	0,883	226	1,93	0,064	201	0,99	0,839	25
DIFF kanał	1,11	0,985	226	1,18	0,870	201	0,99	0,940	25

Tabela 2 Precyzja liczenia leukocytów w PMR w kanałach XE-2100 i dla mikroskopowej metody referencyjnej dla trzech próbek o trzech różnych zakresach

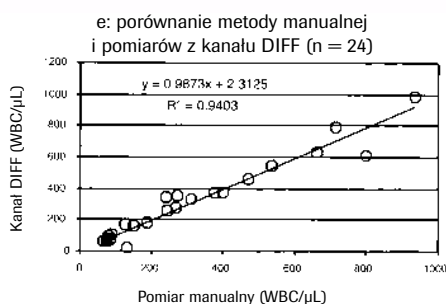
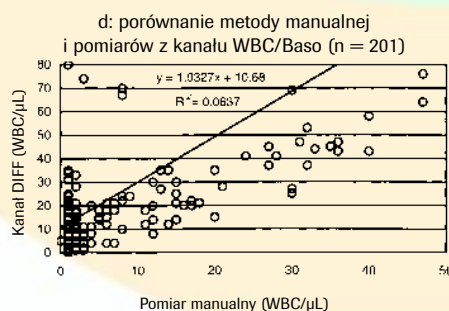
	Kamera FR	kanał DIFF	kanał WBC/BASO
Próbka 1			
Średnia (WBC/µL)	1.3	1.9	4.2
SD	0.48	0.9	2.5
CV (%)	37.0	46.0	59.0
Próbka 2			
Średnia (WBC/µL)	55.9	75.9	71.6
SD	8.49	6.7	10.3
CV (%)	15.0	9.0	14.0
Próbka 3			
Średnia (WBC/µL)	481.9	514.2	503.9
SD	43.5	22.9	32.3
CV (%)	9.0	4.0	6.0



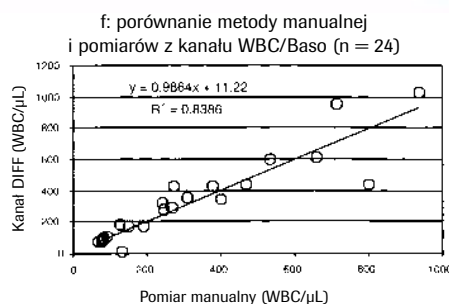
Wykres 1a, b: Krzywe regresji dla referencyjnej metody liczenia cytozy w PMR i dla pomiarów w kanałach DIFF i WBC/Baso XE-2100 dla zakresu A (0–3000 /μL)



Wykres 1c, d: Krzywe regresji dla referencyjnej metody liczenia cytozy w PMR i dla pomiarów w kanałach DIFF i WBC/Baso XE-2100 dla zakresu B (0–50 /μL)



Wykres 1e, f: Krzywe regresji dla referencyjnej metody liczenia cytozy w PMR i dla pomiarów w kanałach DIFF i WBC/Baso XE-2100 dla zakresu C (51–1000 /μL)



podzie manualnej i porównano z wynikami mikroskopowego różnicowania preparatów cytologicznych PMR przygotowanych w cytowirówce i zabarwionych metodą May Grunwalda-Giemsy.

W różnicowaniu uwzględniono podział na leukocyty z polimorfizmem jąder/μL (PMN = granulocyty) i mononuklearne/μL (MN = limfocyty + monocyty).

Zgodność między metodami określono stosując analizę regresji Passinga-Babloka.

WYNIKI

Porównanie metod

Analiza regresji między metodą referencyjną i pomiarami z dwóch różnych kanałów pomiarowych XE-2100 w trzech różnych zakresach A, B i C została przedstawiona w Tabeli I. Widzimy tam dobrą korelację między

mikroskopowym liczeniem leukocytozy i z kanałów dla XE-2100 WBC-DIFF i WBC/Baso o wartościach odpowiednio dla A ($R^2=0,985$; $R^2=0,883$), dla C ($R^2=0,940$, $R^2=0,839$). W ważnym diagnostycznie zakresie cytozy dla PMR 0–50 leukocytów/μL wykazano dobrą korelację z metodą referencyjną dla kanału WBC-DIFF ($R^2=0,870$) w przeciwieństwie do słabej korelacji ($R^2=0,064$) dla kanału WBC/Baso dla zakresu B. Wykresy: 1a–1f przedstawiają graficznie te porównania.

Liniowość

Liniowość dla próbek liczonych metodą komorową FR w mikroskopie jak również dla kanałów pomiarowych XE-2100 wykazała dobrą korelację dla wszystkich tych metod: metoda referencyjna – $R^2=0,97$
kanał WBC-Baso – $R^2=0,98$
kanał WBC-DIFF – $R^2=0,99$.

Precyzja

Precyzja (CV) liczenia leukocytów metodą referencyjną i z dwóch różnych kanałów XE-2100 zostały przedstawione w Tabeli 2. Współczynniki zmienności z XE-2100 były mniejsze dla kanału WBC-DIFF przy cytozie > 50 leukocytów/μL i wynosiły 9% i 4% a dla metody referencyjnej 15% i 9%.

Współczynnik zmienności CV dla niskiego zakresu cytozy < 5 leukocytów/μL był mniejszy dla metody referencyjnej i wynosił 37% (wykonanej przez tego samego technika) niż dla kanałów XE-2100 DIFF i WBC-Baso gdzie miał odpowiednio wartości 46% i 59%.

c.d. w następnym numerze

Analizator XE-2100



Badania oznaczeń markerów sercowych w Wielkiej Brytanii, cz. II

Wing Man Tsang, Avril M Owen, Paul O Collinson i Julian H Barth

cd. z poprzedniego numeru

BADANIE 1.

Rodzaje oferowanych testów

Model używanych markerów sercowych (n=142) przedstawia Tabela 1. Sto dwa-dziesiąt dziewięć laboratoriów oferowało oznaczenie CK. Siedemdziesiąt cztery laboratoria (52%) wykonywało pełny profil testów, a 68 (48%) oznaczało pojedyncze markery sercowe.

Pośród 74 laboratoriów oferujących panel markerów sercowych, 33 (48%) wykonywało badania troponiny jako jeden z testów.

Oznaczanie biochemicznych markerów w diagnostyce ostrej choroby wieńcowej stosuje się od wielu lat. Niektóre z nich np. aminotransferaza asparaginianowa, mioglobina, CK i dehydrogenaza mleczanowa są markerami niespecyficznymi dla uszkodzenia mięśnia serca.

Inne mają różne stopnie swoistości, a ich obecność w krążeniu jest zależna od czasu między wystąpieniem bólu w klatce piersiowej, a badaniem i szybkością eliminacji z krążenia. Do nich zaliczają się CK-MB, stosunek izoform CK, dehydrogenaza hydroksymasłanowa, troponina I i troponina T.

Z 68 laboratoriów, które oferowały testy indywidualne, w 53 (78%) oznaczano troponinę. W żadnym z laboratoriów nie

zgłaszano oznaczania mioglobiny lub izoformy CK-MB we wczesnej diagnostyce, jeśli w EKG nie było zmian. Stosowanie markerów innych niż troponiny w diagnostyce ponownych zawałów nie było przedmiotem tego badania.

Czas badania

NACB (*National Academy of Clinical Biochemistry*) zalecała docelowy czas oznaczania markerów sercowych poniżej 1 godziny. Czas badania zdefiniowano jako czas od pobrania próbki do uzyskania wyniku. W naszym badaniu 57 (40%) laboratoriów wykonywało te testy 24 h na dobę, a 68 (48%) wykonywało je tylko w godzinach pracy (5 laboratoriów miało wydłużony czas pracy od 8.00 do 22.00).

W jednostkach wykonujących zbiorczą analizę troponiny czas badania dla indywidualnych próbek może się różnić w zależności czy próbki te dostarczono przed czy po zbiorczej analizie.

Wbrew zaleceniom NACB czas badania w większości laboratoriów w Wielkiej Brytanii był mierzony od momentu dostarczenia próbki do laboratorium, a nie od momentu jej pobrania. W przypadku 29% (n=41) laboratoriów czas badania wynosił poniżej 1 godziny, w przypadku 39% (n=55) czas badania był poniżej 2 godzin, a w przypadku 46% (n=65) poniżej 3 go-

dzin. Jednakże w przypadku 23% (n=33) czas badania był dłuższy niż 8 godzin.

Częstotliwość badań

W przypadku braku zmian w EKG, w celu wykrycia ostrego niedokrwienia mięśnia sercowego, NACB zaleca pobranie czterech próbek (przy przyjęciu, między 2–4 h, między 6–9 h i ewentualnie między 12–24 h). W tym badaniu wszystkie laboratoria oznaczające troponinę miały zalecenia odnośnie częstotliwości pobrań. 62% (n=88) zalecało pobranie od 1 do 3 próbek, drugie i trzecie oznaczenie wykonując tylko wtedy, gdy pierwszy wynik troponiny był negatywny lub dwuznaczny. 75% (n=107) laboratoriów wykonywało oznaczenia troponiny w zalecanych przedziałach czasowych. ESC/ACC rekomenduje wykonanie testu przy przyjęciu pacjenta, między 6–9 h i ponownie między godziną 12–24 jeśli wcześniejszy wynik był negatywny, a stan kliniczny wskazuje na wysokie ryzyko.

Aspekty kliniczne

Pośród ankietowanych, 44% (n=62) respondentów wymagało wcześniejszej konsultacji klinicystów przed wykonaniem oznaczeń swoistych markerów sercowych. W 57 laboratoriach (40%) stwierdzono, że zlecenia lekarskie miały wpływ na rodzaj oznaczanego markera sercowego. Jeśli nie było szczegółowych zleceń, w 122 laboratoriach (86%) oznaczano wymagane markery sercowe, podczas gdy pozostałych 20 (14%) odmówiono wykonania testów jeśli klinicysta nie skontaktował się z laboratorium. Tylko 64 laboratoria (45%) miały dostęp do algorytmu postępowania w przypadku bólu w klatce piersiowej, a 25 z nich skorzystało.

Markery sercowe, zwłaszcza troponiny, oprócz znaczenia w diagnostyce zawału mięśnia sercowego, odgrywają także inną istotną rolę np. w ocenie perfuzji serco-

Tabela 1. Markery uszkodzenia mięśnia sercowego wykonywane w laboratoriach w WB

Laboratoria wykonujące indywidualne oznaczenia	48%
Średnia liczba wykonywanych testów przez laboratorium	2–3
Laboratoria wykonujące profil testów	52%
CK, AST (HBD, LDH)	26%
CK, CK-MB (AST, LDH)	26%
CK, CK-MB, troponin (AST, LDH)	16%
CK, troponina (AST, LDH)	32%
Średnia liczba wykonywanych testów przez laboratorium	3–4
CK-kinaza kreatynowa; AST aminotransferaza asparaginianowa, HBD-dehydrogenaza hydroksymasłowa, LDH-dehydrogenaza mleczanowa	

wej, w stratyfikacji niestabilnej dusznicy bolesnej i w dalszym rokowaniu.

Współpraca pomiędzy laboratoriami i klinicystami w oznaczaniu markerów sercowych przedstawiona w tym badaniu pokazuje, że rola laboratoriów jest zazwyczaj bierna, chociaż niewielka ich część wykazuje aktywne zaangażowanie zwłaszcza w diagnostykę zawału mięśnia sercowego (Tabela 2.).

Tabela 2. Kontakt klinicystów z laboratoriami w różnych stanach chorobowych mięśnia sercowego

	Aktywna współpraca	Brak aktywnej współpracy	Brak danych
Diagnostyka ZS (n=130)	30% (n=39)	68% (n=88)	2% (n=3)
Diagnostyka ZS o lżejszym przebiegu (n=126)	26% (n=33)	64% (n=81)	10% (n=12)
Niestabilna dusznica bolesna (n=111)	15% (n=17)	61% (n=67)	24% (n=27)
Ocena efektu leczenia trombolitycznego (n=100)	0% (n=0)	44% (n=44)	56% (n=56)
Diagnostyka objętości wyrzutowej serca (n=104)	2% (n=2)	31% (n=32)	67% (n=70)

Diagnostyka przy łóżku pacjenta

Tylko 17 ze 142 laboratoriów (12%) wprowadziło diagnostykę przy łóżku pacjenta. Pozostałe laboratoria oznaczają troponinę jedynie w laboratorium centralnym.

Zmiany w oznaczaniu markerów sercowych

Na to pytanie odpowiedziało 120 laboratoriów. 74 z nich (62%) zgłosiło zmiany w czasie ostatnich 3 lat. W 48 laboratoriach (40%) stwierdzono zadowolenie z poziomu oferowanych przez siebie usług w zakresie oznaczeń markerów sercowych; pozostała część zgłaszała, niedostateczny ich poziom. W 84 (70%) laboratoriach przewiduje się zmiany w niedalekiej przyszłości, pomimo różnych przeszkód, które należy pokonać. Są to między innymi: ograniczenia finansowe – w 76 przypadkach (63%) i przeszkody kliniczne – w 4 (3%).

17 laboratoriów (14%) przyznało się do występowania obu tych ograniczeń.

BADANIE 2.

Wpłynęło 107 odpowiedzi. 59 (55%) z tych laboratoriów, które wcześniej oferowały niepełny panel badań, podniosło jakość świad-

czonych usług poprzez wprowadzenie do oferty oznaczeń troponiny oraz skrócenie czasu badania. W 93 laboratoriach (87%), oferowano teraz możliwość oznaczania troponiny (mimo że nie wszystkie oznaczały ją na miejscu). 37 laboratoriów (35%), które oceniło w pierwszym badaniu poziom swoich usług jako zadowalający, skróciło czas oznaczenia troponiny. Spośród grupy 48 la-

boratoriów (45%), w pierwszym badaniu określających poziom swoich usług jako niewystarczający, ale niebędących w stanie przeprowadzić zmian do czasu drugiego badania, 35 (73%) przewiduje skrócenie czasu oznaczania troponiny w niedalekiej przyszłości.

Komentarze

64 z 107 laboratoriów (60%) zawarło w raporcie swoje komentarze dotyczące oznaczania markerów sercowych.

Przeszkody do pokonania

Problemy zgłaszane w badaniu drugim były bardzo podobne do zgłaszanych w badaniu pierwszym – największą barierą dla większości laboratoriów były ograniczenia finansowe. W obu badaniach (120 laboratoriów odpowiedziało na to pytanie w badaniu pierwszym i 107 w badaniu drugim), 60–65% uznało ograniczenia finansowe za podstawową przeszkodę w ulepszeniu poziomu usług związanych z oznaczeniem troponiny. Mniej niż 7% doświadczyło przeszkód klinicznych, a 10% nie miało problemu z oznaczaniem troponin.

Publikacja zamieszczona na stronie internetowej przez NICE (*National Institute For Clinical Excellence*) i ACB (*Association Of Clinical Biochemists*) ma na celu pomóc laboratoriom w ich staraniach o dofinansowywanie usług związanych z oznaczaniem troponin.

Wnioski

Wykonywanie oznaczeń markerów sercowych uległo radykalnym zmianom w ciągu ostatnich czterech lat.

Większość laboratoriów (prawie 90%) oznacza obecnie troponinę. Wiele laboratoriów przyznaje jednak, że czas badania jest zbyt długi. Większość z nich uważa, że ograniczenia finansowe hamują poprawę obecnej sytuacji, ale wierzy w zmiany na lepsze w przyszłości.

Piśmiennictwo opublikowano w poprzednim numerze



Nowoczesna diagnostyka markerów sercowych przy pomocy analizatora Cardiac reader

– Troponina T
– Mioglobina
– NT-proBNP

NOWOŚĆ

Rola wirusów brodawczaka w karcynogenezie szyjki macicy cz. II

Witold Kędzia, Agata Józefiak, Anna Goździcka-Józefiak, Pracownia Patofizjologii Szyjki Macicy, GPSK, Akademia Medyczna w Poznaniu

cd. z poprzedniego numeru

Genom wirusów brodawczaka

Genom HPV stanowi dwuniciowy DNA zbudowany z około 8 000 par zasad. W jednej z nici DNA można wyróżnić dwa regiony kodujące; wczesny (E) i późny (L), które są przedzielone odcinkiem nie kodującym, pełniącym funkcje regulatorowe (LCR ang. *long control region* lub URR ang. *upstream regulatory region*). Drugi krótki odcinek nie kodujący SNR (ang. *short non-coding region*) znajduje się pomiędzy ramkami odczytu ORF 5 a ORF 2. Zlokalizowane są w nim prawdopodobnie sekwencje promotorowe, których aktywność jest regulowana przez czynniki białkowe pojawiające się w trakcie różnicowania keratynocytów oraz sygnał poli A dla transkryptów wczesnych genów.

W regionie wczesnym występują otwarte ramki odczytu (ORF) kodujące białka odpowiedzialne za replikację wirusa oraz transformację komórek gospodarza. Produktem ORF E1 jest białko jądrowe o masie cząsteczkowej od 68 do 72 kD, związane z replikacją wirusowego DNA i utrzymanie go w formie episomalnej.

Produktem ORF E2 są trzy białka jądrowe o masach cząsteczkowych 28, 31 i 48 kD, które pełnią zasadnicze funkcje w regulacji transkrypcji i replikacji wirusowego DNA.

ORF E2 HPV 16, koduje białko wczesne, ulegające ekspresji w końcowym etapie cyklu życiowego wirusa. Jego rola nie jest do końca poznana. Proteina ta wiąże się z pośrednim typem włókienek keratyny, powodując zapadanie się cytoszkieletu komórkowego co ułatwia uwalnianie cząstek potomnych wirusa z komórek utrzymujących postać koilocytów^{8,11}. ORF E5 koduje hydrofobowe białko E5 o masie 7 kD zbudowane z 44 aminokwasów. Białko to występuje w błonie komórkowej, gdzie

poprzez oddziaływanie na receptory dla EGF, TGF α czy PDGF, może brać udział w deregulacji przekazywania sygnałów do komórki. E5 jest najmniejszym dotychczas poznanym białkiem transformującym. Produktami ORF E6 i ORF E7 są dwa inne białka wirusowe o właściwościach onkogennych. Białko E6 wirusów o wysokim potencjale onkogenym (np. HPV 16), ma zdolność wiązania się z komórkowym białkiem p53 co prowadzi do degradacji p53. Produktem ORF E7 jest białko jądrowe, zbudowane z 98 aminokwasów. Białko to może destabilizować przebieg cyklu komórkowego oddziałując na inne białka takie jak pRB, p107 i p130.

Produktami ORF L1 i ORF L2 są dwa białka strukturalne wirusa: L1 i L2. Do ich syntezy dochodzi tylko w zróżnicowanych keratynocytach. L1 ma masę cząsteczkową 56 kD i należy do najbardziej zachowawczych białek wirusa *Papilloma*. Białko L2 o masie cząsteczkowej 76 kD wykazuje zmienność składu aminokwasowego. Proteiny te tworzą kapsyd wirusa HPV 9⁷.

Pomiędzy otwartymi ramkami odczytu E6 i L1 w genomie wszystkich wirusów *Papilloma* znajduje się nie kodujący rejon regulatorowy (LCR), zawierający odcinki bogate w AT, miejsce promotorowe dla polimerazy RNA II (p 97), oraz liczne elementy wiążące dla białek wirusowych i komórkowych pełniących funkcje regulatorów transkrypcji i replikacji wirusowego materiału genetycznego. W LCR można także wyróżnić odcinki zaangażowane w oddziaływanie na białka macierzy komórkowej i nukleosomy.

Wśród białek komórkowych wiążących się z tym regionem wyróżnić można czynniki transkrypcyjne tj: TEF1, 2; Oct1; AP1; NF1; Sp1; TBP; C/EBP β ; YY1; CDP, AP2; oraz receptory dla hormonów steroidowych, które pełnią funkcję wzmacnia-

czy lub wyciskaczy transkrypcji wirusowych genów.

Rola HPV w etiologii raka szyjki macicy

Wiele danych zarówno eksperymentalnych jak i klinicznych wskazuje na ścisły związek pomiędzy infekcją HPV a rozwojem raka szyjki macicy. Infekcja wirusowa może wyprzedzać w czasie rozwój nowotworu. Jak długi będzie to okres, jest to uzależnione od szeregu czynników. Na pewno ma na to wpływ typ wirusa, czas trwania infekcji, obecność współistniejących zakażeń, ewentualne zaburzenia gospodarki hormonalnej, mutacje w genomie wirusa. W procesie tym ważną rolę odgrywają także czynniki egzogenne oddziałujące ze środowiska, palenie tytoniu, wiek nosiciela czy jego odpowiedź immunologiczna. Powstawanie nowotworu jest procesem wieloetapowym i wieloczynnikowym. Punktem wyjścia całości zmian są mutacje w genach kontrolujących podziały komórkowe i ich różnicowanie. Do powstania raka nie wystarcza pojedyncza mutacja punktowa. Działanie onkogenne kilku karcynogenów kumuluje się w czasie powodując upośledzenie prawidłowego funkcjonowania od 3 do 5 genów^{2,3}.

Istnieje kilka teorii tłumaczących złożony proces transformacji nowotworowej przy udziale wirusa HPV. Jedną z nich zakłada, że przerwanie ramki ORF E1 lub ORF E2, do jakiej dochodzi podczas integracji wirusa do genomu gospodarza powoduje zahamowanie ich ekspresji i niekontrolowaną syntezę dwóch białek onkogennych E6 i E7. Proteiny te mogą wchodzić w interakcje z dwoma regulatorami cyklu komórkowego p53 i RB, które są produktami genów supresji transformacji nowotworowej. Białko p53 jest zaangażowane w regulację cyklu komórkowego,

apoptozę oraz naprawę DNA. W komórkach prawidłowych jego zawartość jest bardzo mała a ekspresja ściśle kontrolowana. W komórkach zakażonych HPV dochodzi do degradacji p53 przy udziale wirusowego białka E6. Białko E7 HPV 16 wiąże się natomiast z białkiem RB.

Transkrypcja genów E6/E7 jest także regulowana przez specyficzne czynniki Brn3a i Brn3b, występujące w keratynocytach. Białka te pełnią odpowiednio funkcje aktywatora lub represora ekspresji wirusowych genów. W rakach szyjki macicy stwierdzono mutacje w protoonkogenach *c-myc*, *H-ras* prowadzące do nadekspresji białek, rearanzacji genomu lub amplifikacji⁹. Obserwowano również utratę heterozygotyczności na chromosomach 3p, 6p, 11p, 18. Wirusy HPV mogą integrować do genomu komórkowego w jednej lub kilku kopiach. Włączone sekwencje wirusowe mają także wpływ na konformację chromatyny, powodując np. przesunięcie nukleosomów. Takie działanie sekwencji wirusowych zmienia dostępność DNA dla polimerazy RNA. Białka wirusowe poza tym, że wchodzi w reakcje z szeregiem czynników komórkowych, odgrywających ważną rolę w regulacji cyklu komórkowego mogą także włączać się w sposób bezpośredni lub pośredni w regulację transkrypcji szeregu genów komórkowych.

W komórkach zainfekowanych wirusem HPV16 stwierdzono nadekspresję receptora dla nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR)¹⁰. Białko jest ważnym mitogenem dla komórek nabłonkowych szyjki macicy, a jego nadekspresję stwierdzono w licznych komórkach raka. Do normalnego funkcjonowania komórek nabłonkowych niezbędne są retinoidy. Brak ich prowadzi do neoplazji, która często cofa się po ich uzupełnieniu. Kwas retinoidowy jest zdolny do zahamowania syntezy EGFR. Retinoidy działają poprzez specyficzne receptory jądrowe, do których należą również receptory dla hormonów steroidowych, witaminy D3, hormonów tyreotropowych i glikokortykoidów. Ich wpływ na aktywność transkrypcyjną genów wirusa HPV nie jest do końca poznany. Wiadomo natomiast, że obniżonemu stężeniu retinoidów w surowicy towarzyszy zwiększona zapadalność na zakażenia HPV¹⁶.

Na aktywność wirusów HPV ważny wpływ ma stężenie hormonów steroidowych w surowicy¹⁵. Zwiększoną zapadalność obserwuje się w grupie kobiet z zaburzeniami gospodarki hormonalnej, podczas ciąży czy stosowania przez dłuższy czas antykoncepcji. W rejonie regulatorowym wirusa HPV 16 występuje element wiążący receptory dla glikokortykosteroidów (GRE). Glikokortykosteroidy modulują aktywność czynników komórkowych zwiększających wytwarzanie białek E6/E7.

Ważny wpływ na przebieg procesu nowotworowego mogą mieć także infekcje współistniejące z HPV, np. zakażenie wirusem HSV czy chlamydiami. Infekcjom tym towarzyszy wydzielanie wolnych rodników, które dodatkowo działają destabilizująco na DNA. Obecność wirusa w komórce może także sprawić, że jest ona bardziej wrażliwa na działanie karcynogenów. Niewiele jest danych dotyczących odpowiedzi immunologicznej u osób zakażonych HPV. Dotychczas prowadzone badania wykazały zmniejszenie się liczby prezentujących antygen komórek Langerhansa oraz wzmożoną ekspresję cząsteczek MHC klasy II, które zamiast stymulować odpowiedź immunologiczną indukują tolerancję na antygeny HPV¹⁰. Odnotowano także spadek liczby śródnabłonkowych limfocytów T oraz zmiany w stosunku subpopulacji limfocytów CD4 do limfocytów CD8 z przewagą CD8 w dysplazjach i CD4 w rakach.

Na aktywność onkogenną wirusa HPV ma również wpływ struktura jego genomu. Stwierdzono, że progresja dysplazji w rakach płaskonabłonkowych jest bardziej dynamiczna gdy dochodzi do infekcji onkogennymi typami HPV dodatkowo obciążonymi mutacjami w genie E6 i E7¹⁷. Podobnie, gdy mutacje dotyczą miejsc wiążących białka, które są odpowiedzialne za represję transkrypcji wirusowych genów: YY 1 i PSM.

Wysoka korelacja pomiędzy zakażeniem HPV a zapadalnością na raka szyjki macicy stwarza możliwość wykorzystania zakażenia wirusowego jako swoistego markera określającego ryzyko rozwoju procesu nowotworowego. W celu wykrycia infekcji stosuje się metody identyfika-

cji sekwencji wirusowego DNA przy pomocy metody reakcji łańcuchowej polimerizacji (PCR). Prowadzone są także badania serologiczne, w których rolę markera pełnią przeciwciała anti-HPV charakterystyczne dla poszczególnych typów wirusa HPV. Dotychczasowe wyniki wskazują, że miano przeciwciał anti E6 i E7 HPV16 jest znacznie wyższe u kobiet z dysplazją komórek szyjki macicy. Ryzyko rozwoju raka szyjki macicy przy obecności w surowicy przeciwciał anti E6/E7 HPV16 wzrasta 15,4 krotnie. Wykorzystując do badań test ELISA wykazano zależność między mianem oznaczonych przeciwciał a rozmiarem guza pierwotnego i zajęciem węzłów chłonnych¹. Opracowano również system interpretacji wyników serologicznych ułatwiający określenie rokowania co do dalszego przebiegu choroby i skuteczności jej leczenia.

Infekcje HPV występują stosunkowo często u osób bez objawów klinicznych (ok. 40%). Główną drogą ich przenoszenia są kontakty płciowe. Od dawna prowadzone są badania nad przygotowaniem odpowiednich szczepionek profilaktycznych, jak również terapeutycznych. Zadanie to nie jest łatwe, ponieważ brak jest odpowiedniej linii komórkowej do powielania wirusów HPV. Jako czynniki stymulujące odpowiedź immunologiczną próbuje się wykorzystać białka wirusa L1 i L2, które potrafią włączyć się do pustych kapsydów i tworzyć cząstki wirusopodobne (VLP, ang. *virus like particles*), oraz białka E6 i E7 otrzymane w procesach biotechnologicznych. Podejmowane są również próby przygotowania szczepionek terapeutycznych. W tym przypadku wykorzystuje się epitopy peptydów wirusowych E6 i E7 otrzymane w warunkach *in vitro*. Epitopy te rozpoznawane są przez cytotoksyczne limfocyty T (CTL) eliminujące komórki zakażone HPV⁶. Inne doświadczalne metody terapii wykorzystują antysensowne oligonukleotydy blokujące translację wirusowych białek onkogennych. Przydatność proponowanych sposobów zapobiegania infekcjom HPV można będzie jednak ocenić dopiero po przeprowadzeniu dalszych badań.

Piśmiennictwo dostępne w redakcji

Międzynarodowe Forum IVD

dr Teresa Koblik, Diagnostyka Laboratoryjna, Kraków

W dniach 8–10 czerwca 2005 roku odbyło się w Atenach spotkanie biochemików i lekarzy Europy Środkowej. Gospodarzem spotkania pt. „Forum Diagnostyki *in vitro*” była firma Roche Diagnostics. Jest to pierwsza konferencja z cyklu, kolejne planowane są w roku następnym. Nieprzypadkowo zaproszono kraje Europy centralnej i wschodniej, te, które stały się członkami lub aktualnie kandydują do Unii Europejskiej. Fakt członkostwa w Unii ma duże znaczenie nie tylko dla gospodarki, czy rolnictwa poszczególnych krajów, ale otwiera nowe możliwości i ułatwia dostęp do zdobytych na polu diagnostyki laboratoryjnej. W forum IVD wzięło udział 120 uczestników, z takich krajów jak Niemcy, Afryka Południowa, Turcja, Czechy, Węgry, Chorwacja, Grecja, Bułgaria, Rumunia, Słowacja, Słowenia i Chorwacja.

Celem spotkania była wymiana doświadczeń ekspertów i uczestników spotkania, a także zapoznanie się z innowacyjnymi rozwiązaniami w zakresie diagnostyki, w tym prezentacja najnowszych osiągnięć na polu diagnostyki *in vitro*. Lepsze zrozumienie udziału tej dziedziny w optymalizacji procesów diagnozy i leczenia czyni to leczenie skuteczniejszym, a stosowanie leków w terapii celowanej, zmniejsza ich działania uboczne i pozwala ograniczyć koszty personalne i społeczne.

Imponująco wypadła prezentacja firmy Roche, jej kluczowych produktów, wyników finansowych i roli, jaką odgrywa na rynku oraz przedstawienie planów sięgających roku 2040. Działalność Roche obejmuje wykrywanie, profilaktykę, diagnostykę i leczenie. Firma jest światowym liderem w zakresie leków onkologicznych, leków używanych w transplantologii oraz w wirusologii. Na świecie wydatki na ochronę zdrowia wynoszą 2 500 mld dolarów, z czego 4% stanowią wydatki na diagnostykę, w tym 1% na diagnostykę laboratoryjną.

Firma Roche ma największe udziały w światowym rynku, tj. ok. 21%, ze wzro-

stem rocznej sprzedaży produktów o 8%. Działa w 5 regionach na świecie z czego w czterech jest liderem. Zakres działania to badania naukowe w dziedzinie nowych technologii, innych produktów używanych w biotechnologii, diagnostyka molekularna wykorzystująca technologię PCR, która głównie jest wykorzystywana w wirusologii, badaniach krwi, mikrobiologii, onkologii. Kolejna dziedzina to diagnostyka scentralizowana dostarczająca zintegrowane systemy i nowe technologie celem obniżenia kosztów leczenia, następnie NPT (z ang. *Near Patient Testing*) badania nad systemami i produktami pozwalającymi na diagnostykę przy łóżku chorego czy diabetologia z całym systemem Accu Chek zapewniającym chorym i lekarzom skuteczniejsze i łatwiejsze leczenie cukrzycy. Firma zatrudnia na całym świecie 65 tys. pracowników, przedstawicielstwa są obecne w 150 krajach, w tym w dziale diagnostyki zatrudnionych jest 19 tys. osób w 40 krajach.

Nie bez powodu cytuję powyższe dane, gdyż pozwalają one wyrobić sobie opinię i wyobrażenie o funkcjonowaniu i nakładach finansowo-intelektualno-badawczych firmy i pozwalają pracownikowi diagnostyki laboratoryjnej czy lekarzowi przy łóżku chorego spojrzeć na problem globalnie i z szerszej perspektywy.

Spotkanie otworzył ambasador Szwajcarii w Grecji Pierre Monod witając uczestników spotkania.

Dr Michael Heuer – dyrektor Roche Diagnostics dla Europy Centralnej i Wschodniej przedstawił oblicze, politykę firmy i zamierzenia omawiając zarówno Roche Pharma jak i Roche Diagnostics. Wyraził nadzieję na możliwości współpracy biznesowej i naukowej stojące przed zaproszonymi na spotkanie krajami. Przedstawił także nowe produkty jak np. testy stosowane w koagulologii, onkologii (rak skóry), technologię PCR stosowaną w wirusowych zapaleniach wątroby typu B i C czy wprowadzenie AmpliChip CYP 450, co pozwoli

ocenić skuteczność i tolerancję szeregu leków, a więc celowość ich stosowania u danego pacjenta. Nowymi produktami będzie nowa generacja osobistych pomp insulinyowych Disetronic czy modułarny system Cobas Modular Platform do badań chemicznych i immunochemicznych.

Kolejnym wykładowcą był prof. Michael S. Pepper z oddziału Medycyny Nuklearnej Instytutu i Szpitala w Pretorii (Afryka Południowa). Przedstawił on etiologię schorzeń chorób jako wynik zaburzeń genetycznych i wpływu środowiska. Omówił znaczenie rozpoznawania mutacji i polimorfizmu w działaniach prewencyjnych i terapeutycznych. Prof. Pepper zajmuje się problemami przełożenia danych uzyskanych w badaniach genetycznych na diagnostykę i terapię. Następnie skoncentrował się na roli farmakogenetyki i możliwości skutecznego jej wykorzystania. Zainteresowanie tą dziedziną jest wynikiem obserwacji potwierdzających dużą liczbę działań ubocznych leków i ich niską skuteczność u niektórych pacjentów. Oba te zjawiska wynikają z faktu konwersji metabolicznych. I tak, słabo metabolizowane leki stają się bardziej toksyczne w swoim działaniu, z kolei szybka degradacja leków czyni działanie leku mało skutecznym. Kluczem do rozwiązania tego problemu jest rodzina enzymów Cytochrom P450. Dwa z nich CYP2D6, CYP2C19 są zaangażowane w metabolizm ok. 30% wszystkich istniejących leków. Kluczem do indywidualizacji leczenia jest propozycja firmy Roche w postaci testu AmpliChip CYP450. Ocena polimorfizmu za pomocą tego testu pozwoli uczynić terapię bardziej efektywną. Wykonanie badania dostarcza informacji do zastosowania leku bądź wykluczenia go z terapii, np. statyny czy blokera enzymu konwertującego. Światowa populacja ludzi, których organizm nie wytwarza enzymu CYP2D6 liczy 30 mln, nie powinni oni otrzymywać leków metabolizowanych przez cytochrom. I tak np. pochodne sulfo-

nylomocznika są metabolizowane przez CYPC9, a tiazolidinediony przez CYPC8, stąd w pewnej grupie pacjentów przy mutacji tego genu leki pozostają nieskuteczne, a wobec braku tej wiedzy często stosowane, powodując działania uboczne i generując koszty. Oznaczenie mutacji pozwala na przewidywanie działania leku lub braku tego działania a także na ocenę toksyczności w przypadku nałogu palenia, np. u palaczy zachodzi konieczność zwiększenia dawki leku, by osiągnąć właściwy poziom terapeutyczny. Około 10–30% osób słabiej odpowiada na działanie inhibitorów enzymu konwertującego, 10–60% na statyny, 15–35% na beta blokery. W obecności mutacji dehydrogenazy G-6-P (tj. brak hydrolizy scolliny) może wystąpić ryzyko hemolizy przy stosowaniu około 200 leków. Obecność polimorfizmu acetylotransferazy powoduje wzmogoną toksyczność leków na wątrobę i układ neurologiczny. Tak więc, wzmogony metabolizm leków w wyniku mutacji powoduje niemożność osiągnięcia poziomu terapeutycznego, a słaby metabolizm toksyczność działania leków.

Dr Marco Treskes jest lekarzem pracującym w jednym ze szpitali w Amsterdamie. Jednostka ta liczy 530 łóżek, wykonuje się tu 21 mln analiz rocznie, zatrudnia 145 lekarzy i 95 rezydentów. Przedstawił system POCT (ang. *Point of Care Testing*) czyli system badań przy łóżku chorego w lub poza szpitalem, np. w gabinecie lekarskim. Omówił korzyści tego systemu poszerzającego wachlarz usług laboratoryjnych, jego roli i miejsca w systemie diagnostyki scentralizowanej. Zaprezentował zakres badań, jaki powinien być wykonywany, a także procedury zapewnienia prawidłowej kontroli badań i ich wysokiej jakości. Przedstawił swoje dobre doświadczenia nabyte w czasie 3-letniego istnienia tego systemu z zastrzeżeniem, że musi istnieć nad nim nadzór i pełna odpowiedzialność ponoszona przez laboratorium centralne.

Prof. Tomas Zima z Instytutu Chemii Klinicznej i Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Karola w Pradze zajął się aktami prawnymi i wymogami na polu kontroli badań i ich jakości. Badania *in vitro* stanowią główną część badań diagnostyki laboratoryjnej. Zgodnie z wymogami unifikacji systemu diagnostyki istnieje konieczność podniesie-

nia poziomu profesjonalizmu, zwłaszcza poprzez monitorowanie jakości i certyfikację.

Laboratoria powinny posiadać akredytację. Założenia planu EC4, czyli Europejskiego Komitetu Chemii Klinicznej, Forum Europejskich Towarzystw Chemii Klinicznej i Medycyny Laboratoryjnej (FESCC) oraz Europejskiego Stowarzyszenia Producentów Diagnostyki (EDMA) koncentrować się będą nad ustaleniem i ujednoliceniem standardów, akredytacji i rekomendacji dla diagnostyki *in vitro*.

Prof. Magdalena Łętowska, kierownik Zakładu Transfuzjologii i Organizacji Służby Zdrowia IHT przedstawiła stan badań dotyczących krwi przeznaczonej do transfuzji w Polsce. W tym zakresie stosowany jest system CobasAmpli Screen i inne testy oparte o metodę PCR. W grupie 3,9 mln dawców u 55 osób wykryto objawy *hepatitis C*, z 310 tys. próbek krwi w 5 przypadkach potwierdzono *hepatitis B*. Nie stwierdzono obecności wirusa HIV. Od 2005 roku w Polsce wprowadzono badania krwi przeznaczonej do transfuzji w kierunku *hepatitis B i C* oraz HIV.

Prof. Andrea Rita Horvath, członek Komitetu Medycyny Opartej na Faktach (ang. *Evidence Based Medicine EBM*) Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej i Laboratoryjnej (IFCC), Dyrektor Zakładu Chemii Klinicznej Uniwersytetu w Szege-dzie na Węgrzech przedstawiła uzasadnienie dla ustalania faktów medycznych

i laboratoryjnych na podstawie randomizowanych, wielośrodkowych badań. Podkreśliła, iż na polu chemii klinicznej ich ilość jest znikoma. Ponadto heterogenność badanych populacji czy odmienne plany przeprowadzenia badań utrudniają przeprowadzenie porównań. Planowane działania międzynarodowej organizacji IFCC zmierzają do rozwiązania tego problemu.

Dr George Kurz przedstawił zamierzenia diagnostyczne firmy Roche, w tym badania prozapalnych cytokin i wielu markerów diagnostycznych, m.in. dysfunkcji mięśnia sercowego, nowotworowych płuca, sutka, jelita grubego, choroby Alzheimera, neurologicznych oraz reumatologicznych. Zaprezentował także nowy produkt, jakim jest system **cobas**, platforma diagnostyczna, której wydajność jest stale podnoszona. Dla przykładu system **cobas c 701**, zbudowany na bazie 3 modułów biochemicznych i 2 immunochemicznych wykonuje do 2000 oznaczeń na godzinę.

Niezwykle ciekawy program naukowy, przedstawienie możliwości i planów firmy Roche w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej zmuszało uczestników spotkania do refleksji nad obecnym stanem diagnostyki laboratoryjnej. Naczelnym przesłaniem całego Forum było dążenie do tego by diagnostyka, czy leczenie było perfekcyjne, by pacjent odnosił korzyść, a pracownicy diagnostyki i lekarze satysfakcję.

Uczestnicy Forum IVD zwiedzają Akropol



Roche OMNI C = cobas b 121

Rok 2005 jest w Roche Diagnostics Polska rokiem marki **cobas**. Jesteśmy bowiem świadkami przełomowej decyzji firmy o wdrażaniu strategii marki globalnej obejmującej wszystkie produkty Roche Diagnostics.

Marka **cobas** jest parasolem obejmującym całą ofertę diagnostyki *in vitro* Roche Diagnostics, czyli produkty z dziedziny chemii klinicznej, immunochemii, parametrów krytycznych oraz diagnostyki molekularnej. Obejmuje produkty nowo wprowadzane oraz wybrane produkty z obecnych już na rynku. Marka **cobas** jest marką analizatorów, odczynników, programów wspomagających pracę laboratorium dostarczanych przez Roche Diagnostics.

Na łamach LabForum przekazujemy informacje o kolejnych krokach we wdrażaniu strategii marki **cobas**. Informowaliśmy już o wprowadzeniu odczynników Elecsys w nowej szacie graficznej **cobas e design** oraz o przygotowaniach do wprowadzenia nowych kaset odczynników biochemicznych.

Następnym krokiem jest objęcie marką **cobas** naszej oferty z zakresu diagnostyki parametrów krytycznych. Pierwsza zmiana dotyczy analizatora Roche OMNI C. Począwszy od numeru seryjnego 5001 analizatory OMNI C będą nosiły nazwę **cobas b 121**. Nazwa marki jest jednocześnie nazwą aparatu; litera **b** wskazuje na analizator z dziedziny parametrów krytycznych pracujący na stole (ang. *benchtop POC*); cyfry oznaczają kolejno: 1 – moduł, 2 – równowagę kwasowo-zasadową z elektrolitami, 1 – generację.

Pierwsze analizatory **cobas b 121** pojawią się w laboratoriach w grudniu 2005 roku. Aparaty OMNI C zainstalowane do tego czasu nie zmienią swojej nazwy. Nie zmieni się oprogramowanie analizatora, nie będzie konieczna wizyta inżyniera serwisu. Jednocześnie na opakowaniach od-

czynników i innych materiałów niezbędnych do pracy analizatora **cobas b 121/OMNI C** pojawi się logo **cobas**, któremu nadal będzie towarzyszyć nazwa OMNI C.



cobas®
Life needs answers

system cobas b 121
Pewność działania przy pomiarach gazometrycznych

Umożliwia szybkie podejmowanie decyzji zapewniając:

- Komfort użytkownika
- Sprawną kontrolę jakości
- Ekonomikę pracy
- Optymalizację działania

Roche Diagnostics

COBAS, COBAS b 121 i LIFE NEEDS ANSWERS są znakami towarowymi należącymi do Roche.
©2005 Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH - Biberach/Ravensburg - Germany
www.roche-diagnostics.com