

LabForum

*Roche Diagnostics Polska
życzy Wesółych Świąt*





Świąteczne Życzenia



Diagnostics

Szanowni Państwo,

Z okazji zbliżających się Świąt Bożego Narodzenia i Nowego Roku pragnę złożyć Państwu najserdeczniejsze życzenia wszelkiej pomyślności i radości zarówno na polu zawodowym, jak i prywatnym. Posługując się cytatem Konstantego Ildefonsa ... „aby Święta Bożego Narodzenia były Bliskością i Spokojem, a Nowy Rok – Dobrym Czasem”... tego życzę Państwu w imieniu własnym i całego naszego zespołu.

Tradycyjnie wraz ze zbliżającym się końcem roku nadchodzi czas podsumowań i refleksji. Z wielką przyjemnością i niekłamaną dumą mogę przyznać, że był to bardzo udany rok. Nasz zespół, wykonał ambitne zadania wyznaczone na rok 2004.

Zorganizowaliśmy wiele spotkań i szkoleń dla naszych klientów, wspomnę tu tylko konferencje na zamku w Rydzynie, Piechowicach k. Szklarskiej Poręby czy Kazimierzu Dolnym. Tego typu bezpośrednie kontakty z klientami są dla nas bardzo ważne i zamierzamy je nadal rozwijać. W przyszłych latach planujemy wydatnie wzmocnić funkcję edukacyjną naszej firmy.

W bieżącym roku odnotowaliśmy wiele sukcesów. Komitet Organizacyjny XV Zjazdu PTDL uhonorował naszą firmę nagrodą Sponsora Głównego POL MEDLAB 2004. Jednym z ważniejszych osiągnięć był udanie przeprowadzony projekt zaopatrywania Banków Krwi. Testy Roche Diagnostics będą stosowane przez najbliższe dwa lata w badaniach przesiewowych dla ponad 80% krwi pobranej w Centrach Krwiodawstwa na terenie całego kraju. Cieszy nas fakt, że silną stroną oferty diabetologicznej jest nowy glukometr Accu-Chek Active, który uzyskał bardzo dobrą opinię wśród użytkowników. W trosce o podniesienie jakości życia ludzi z cukrzycą wprowadziliśmy także na rynek Accu-Chek Smart Printer, drukarkę specjalnie zaprojektowaną dla użytkowników glukometrów. Dobiegają również końca prace nad wprowadzeniem przystawki głośnomówiącej dla ludzi słabo- i niewidzących.

Zakończyliśmy etap konsolidacji naszego zespołu, w dużej mierze przyczyniła się do tego faktu, wcześniej wspomniana, zmiana siedziby, która znacząco podniosła efektywność pracy kolegów i koleżanek, co ma bezpośredni wpływ na jakość obsługi klientów.

Liczymy na rychłe spotkanie w przyszłym roku, życzę Państwu przyjemnej lektury.

Z poważaniem,

Andrzej Banaszkiewicz

Dyrektor Generalny

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.

Spis treści:

Świąteczne Życzenia	2
Diagnostyka zakażeń wirusem HCV	3-5
Wartość diagnostyczna N-końcowego propeptydu prokolagenu typu I (PINP)	6-8
Wskaźniki surowicze (SERUM INDICES)	8-9
Ocena nowego automatycznego analizatora hematologicznego Sysmex XT-2000i	9-12

Nasz adres:

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

Diagnostyka zakażeń wirusem HCV

Michał J. Majchrzak, Urszula Komorowska, Ewa Tobolewska, Grzegorz P. Stańczak, Katarzyna Przybylska-Stengiel, Janusz J. Stańczak

Wstęp

W 2003 r. liczba potwierdzonych wirusowych zapaleń wątroby typu C (wzw C) przekroczyła w Polsce liczbę wzw typu B¹. Jest to wynik wydajnej profilaktyki swoistej zakażeń HBV oraz jej braku w przypadku HCV. Około 50–70% pacjentów z wzw C jest rozpoznawanych w fazie przewlekłego zapalenia wątroby; również w większości przypadków nie jest możliwe określenie momentu zakażenia ani identyfikacja czynników ryzyka². Świadczy to zarówno o niskiej jakości wywiadów epidemiologicznych, jak i „skrytości” zakażenia HCV oraz wykrywania go w sposób przypadkowy.

Leczenie wzw C staje się coraz skuteczniejsze. Najnowsze schematy leczenia skojarzonego (interferon pegylowany oraz ribawiryna) są znacznie skuteczniejsze niż monoterapia interferonami. Jednak w dalszym ciągu u 40–60% leczonych nie uzyskuje się eradykacji wirusa, głównie z powodu dominujących w Polsce genotypów HCV³.

Zamiarem autorów jest przedstawienie diagnostyki laboratoryjnej wykorzystującej markery wirusa, obejmującej zarówno testy genetyczne jak i serologiczne, z pominięciem klasycznych markerów uszkodzenia wątroby.

Zróznicowanie genetyczne HCV

Materiał genetyczny w postaci RNA, niska wierność replikacji typowa dla wirusowej polimerazy RNA oraz brak mechanizmów naprawczych są głównymi przyczynami zróżnicowania i zmienności genetycznej HCV. Wirus istnieje jako heterogenna populacja wariantów genetycznych. Wyodrębniono co najmniej sześć głównych typów genetycznych, dalej różnicowanych na 37–110 subtypów⁴. Pojawiły się doniesienia o następnych genotypach, oznaczonych od 7 do 11, identyfikowanych w krajach Azji Południowo-Wschodniej. Różnice w sekwencjach nukleotydów pomiędzy poszczególnymi genotypami sięgają

35%, a pomiędzy subtypami dochodzą do 20%⁵. Genotypy różnią się występowaniem geograficznym⁶, są także najważniejszą cechą wirusa warunkującą podatność na leczenie przeciwwirusowe. W organizmach zakażonych HCV dodatkowo wykazuje wysoką zmienność osobniczą, będącą skutkiem kumulowania mutacji. Powstają one najczęściej w odcinkach hiperzmiennych genomu, na granicy regionu E2/NS1⁷. Powstające mutanty są poddawane silnej presji mechanizmów odpornościowych zakażonego organizmu, doprowadzającej do selekcji wariantów o najwyższej wydolności replikacyjnej. Ostatecznym efektem jest powstawanie tzw. szczepów rzekomych (*quasispecies*). Kolejno izolowane warianty mogą różnić się nawet do 10%. W licznych badaniach próbowano ocenić zależność między pojawianiem się *quasispecies* i ich złożonością a skutecznością leczenia. Uzyskiwane wyniki są niejednoznaczne, a metody oceny nie zostały wprowadzone do rutynowej diagnostyki.

Podstawowe metody analizy genetycznej HCV

Podstawową metodą oceny zmienności genetycznej HCV jest sekwencjonowanie wybranych fragmentów genomu, namnożonych podczas reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR). W oznaczaniu genotypu HCV najczęściej sekwencjonuje się genotypowo swoje regiony – 5'UTR, E2/NS1 lub NS5. Sekwencjonowanie jest metodą najbardziej informatywną, jednocześnie kosztowną, wymagającą skomplikowanego wyposażenia i pracowników o dużym doświadczeniu. Metodą prostszą i tańszą jest, najczęściej stosowana, hybrydyzacja produktów PCR z genotypowo swoistymi sondami.

Typ genetyczny HCV może być także zidentyfikowany pośrednio, poprzez wykrycie testem EIA przeciwciał genotypowo specyficznych – tzw. serotypowanie. Test

Murex HCV Serotyping 1–6 Assay (Murex) zapewnia rozróżnienie 6 głównych typów genetycznych. Oceniane są przeciwciała przeciwko białkom rdzenia i regionu NS4. Umożliwia on ustalenie genotypu u ok. 85–90% pacjentów z przewlekłym wzw C, natomiast nie jest możliwa identyfikacja subtypów⁸. Zgodność z wynikami testów genetycznych wynosi ok. 95%. Test nie zapewnia rozróżniania zakażeń mieszanych, może być akceptowalną alternatywą przy niskich funduszach.

Diagnostyka serologiczna

Stosowane w diagnostyce zakażeń HCV testy immunoenzymatyczne (EIA, ELISA) wykrywają przeciwciała skierowane przeciwko różnym epitopom wirusa. Powstały trzy generacje testów przesiewowych wykrywających przeciwciała anty-HCV. Pierwsza (1989 r.) zawierała antygen rekombinacyjny, pochodny regionu NS4. Druga generacja (1992 r.) zawiera antygeny regionów rdzenia (*core*) i NS3, zapewnia znacznie większą czułość i swoistość detekcji, skraca czas okienka serologicznego o 4–10 tyg. Trzecia generacja (1994–95 r.) zawiera zmodyfikowane antygeny *core* i NS3 oraz antygen właściwy regionowi NS5. Wykazuje większą czułość, natomiast praktycy mają zastrzeżenia do swoistości, wskazując na stosunkowo częste przypadki uzyskiwania wyników fałszywie dodatnich.

Wyniki testów przesiewowych są weryfikowane testami potwierdzenia. Test RIBA (*recombinant immunoblot assay*) zawiera antygeny podobne do obecnych w testach EIA II generacji i wykorzystuje technologię immunoblottingu. Powstały trzy generacje tego testu; obecnie możliwe jest potwierdzenie zakażenia testem genetycznym, najczęściej – RT-PCR HCV.

Od 2002 r. jest też dostępny test Track-C (Ortho-Clinical Diagnostics) wykrywający antygen rdzeniowy HCV. Umożliwia ocenę ilościową, skraca znacząco czas

okienka serologicznego w porównaniu do testów wykrywających przeciwciała. Jest swoisty, natomiast jego czułość znacznie różni się od oferowanej przez testy genetyczne – wykrywa antygenem dopiero przy 8–10 tys. IU HCV/mL (IU – *International Unit* – jednostka międzynarodowa, równa ok. 2,6 kopiom HCV)⁹.

Czas trwania okienka serologicznego w zakażeniu HCV jest osobniczo specyficzny. Przeciętnie po 7–8 tygodniach od zakażenia wykrywa się przeciwciała, okres ten może być jednak znacznie dłuższy. Po samoistnej eliminacji zakażenia przeciwciała mogą utrzymywać się dożywotnio, u niektórych pacjentów zanikają stopniowo¹⁰. Znacznie utrudniona jest diagnostyka serologiczna pacjentów leczonych immunosupresyjnie, z upośledzonym wytwarzaniem przeciwciał; podobny problem istnieje wśród pacjentów leczonych hemodializami.

Testy serologiczne są oferowane przez właściwie wszystkie duże firmy diagnostyczne.

Najbardziej rozwojową technologią są „chipy serologiczne”, które zawierają płytkę silikonową, na którą naniesione są przeciwciała przeciwko wybranym wirusom. Antygeny wirusów obecnych w badanej próbce są rozpoznawane i wiązane. Komputerowy system detekcji umożliwia wykrycie i identyfikację rodzajów i odmian wirusów. Pierwszy doświadczalny chip – ViriChip – został skonstruowany przez firmę BioForce Nanosciences (USA)¹¹.

Diagnostyka genetyczna

Materiałem badanym w kierunku HCV może być surowica, osocze lub wycinek biopsyjny.

Testy genetyczne umożliwiają maksymalnie czule i specyficzne wykrycie RNA HCV oraz jego charakterystykę. Większość z nich wykorzystuje powielanie wykrytego fragmentu genomu wirusa. Najczęściej stosowana jest metoda PCR, poprzedzona odwrotną transkrypcją (*reverse transcription*) RNA HCV na cDNA. Inne testy oparte na amplifikacji to metody NASBA oraz TMA. W odróżnieniu od PCR przebiegają bez cyklicznych zmian temperatury, są bardziej złożone biochemicznie, a ich produktem jest RNA.

Tabela 1. Testy stosowane w różnych fazach wzw C

Metoda	Badanie przesiewowe	Potwierdzenie zakażenia	Strategia leczenia	Odpowiedź na leczenie	Rokowanie trwałej odpowiedzi
Aktywność ALT/AST	X			X	
EIA anty-HCV	X				
Test potwierdzenia (RIBA)		X ^a			
RT PCR HCV RNA jakościowy		X		X	
RT PCR HCV ilościowy			X	X	X
Genotypowanie HCV			X		X

^a – test już niezalecany

Zadaniem testów jakościowych jest wykrycie RNA HCV. W praktyce można jeszcze spotkać warianty tworzone samodzielnie w laboratoriach (tzw. *in-house PCR*), nie spełniają one jednak standardów niezbędnych dla certyfikacji testu.

Bardzo przydatne są testy ilościowe, oceniające poziom wirerii (ang. *viral load*) HCV. Najczęściej stosowane testy to AmpliCor HCV Monitor v. 2 (Roche Diagnostics); znacznie rzadziej – LCx HCV RNA Quantitative Assay (Abbott). Oferowane zakresy czułości umożliwiają wykrycie już 23–50 IU/mL przy jednoczesnej liniowości pomiaru sięgającej 7,5 do 15 x 10⁵ IU/mL.

Inna technologia wykorzystuje zwiększanie intensywności sygnału po reakcji hybrydyzacji – metodę rozgałęzionego DNA (*branched DNA – bDNA*). Dostępny jest test Versant HCV RNA 3.0 Quantitative Assay (Bayer). Ma on czułość i zakres pomiaru podobne do metod PCR. Jednakże, według przyjętych porozumień, to technika PCR jest uznana za diagnostyczny „złoty standard”.

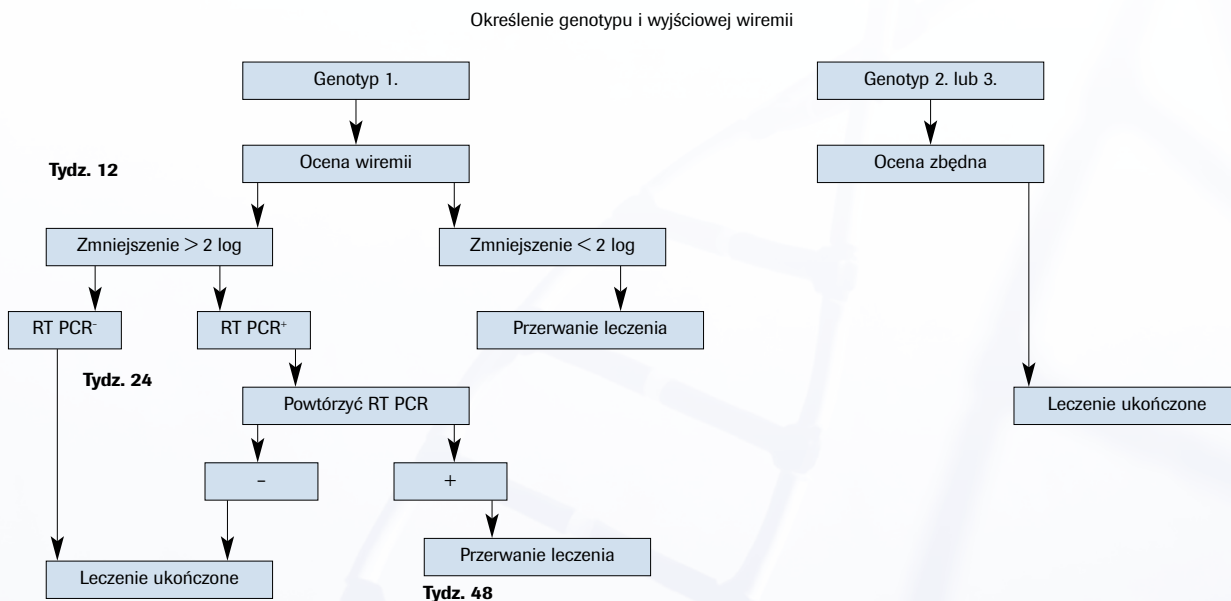
Najnowsze testy diagnostyczne wykorzystują *real-time* PCR (PCR czasu rzeczywistego). Jest to fluorescencyjna detekcja produktu PCR po każdym cyklu amplifikacji i określenie wyjściowej ilości poszukiwanego materiału genetycznego. Cenną zaletą jest bardzo wysoka czułość połączona z liniowością pomiaru w zakresie 20–10⁸ IU/mL¹². Tech-

nologia *real-time* PCR w wersji wielokrotnej (*multiplex*) umożliwia również jednoczesne wykrycie materiału genetycznego różnych drobnoustrojów¹³. Bardzo ważną cechą jest również hermetyczność systemu – próbka nie jest otwierana po reakcji, więc ryzyko zanieczyszczenia produktami reakcji PCR jest całkowicie wyeliminowane.

W celu rozpoznania typu genetycznego HCV w rutynowej diagnostyce najczęściej stosuje się test hybrydyzacji HCV INNO-LiPA II (Innogenetics, obecnie Bayer). Najnowszy wariant umożliwia rozróżnienie 7 genotypów (1–6 i 10) oraz 16 subtypów. Metodą alternatywną jest sekwencjonowanie regionów genotypowo swoistych; jej wadą jest złożoność i cena. Najczęściej stosowany jest test TRUGENE HCV Genotyping Kit (Visible Genetics).

Najprawdopodobniej metodą rewolucjonizującą diagnostykę genetyczną będzie technologia DNA chipów (mikromacierzy). Na nośnik nanoszone są krótkie łańcuchy jednoniciowego DNA. Podczas hybrydyzacji funkcjonują one jako sondy, wykrywając w badanej próbce fragmenty komplementarnego DNA lub RNA. Możliwe jest skonstruowanie chipa wykrywającego np. RNA HCV i jednocześnie określającego jego ilość oraz identyfikującego wszystkie znane warianty genetyczne.

Nowym trendem w diagnostyce genetycznej jest wprowadzanie automatycz-

Ryc. I Zalecany schemat diagnozowania w przebiegu wzw C

nych systemów izolacji kwasów nukleinowych. Zapewniają one powtarzalność procesu, unikanie błędów ludzkich oraz chronią izolaty przed nadkażeniem. Ich wadą jest wysoka cena, uzasadniająca instalację jedynie w laboratoriach wykonujących duże ilości oznaczeń¹⁴.

Przedstawione metody genetyczne umożliwiają najwcześniejsze wykrycie zakażenia. Często uzyskuje się wynik dodatni testu PCR, bez wykrywanych przeciwciał. Sugeruje to fazę ostrą zakażenia, najczęściej później potwierdzaną serokonwersją.

Pierwsze wersje testów, optymalizowane wobec sekwencji genotypów 1a i 1b, wykazywały niższą czułość i swoistość wobec innych genotypów. Najnowsze, zawierające zmodyfikowane primery i sondy, pozbawione są tej wady.

Diagnostyka HCV w praktyce klinicznej

W Tabeli 1. przedstawiliśmy zastosowanie poszczególnych testów w różnych fazach diagnostyki HCV oraz ich przydatność w planowaniu i monitorowaniu leczenia wzw C. Zgodnie z zaleceniami po wykryciu zakażenia HCV, przed rozpoczęciem terapii, należy zidentyfikować typ genetyczny wirusa oraz ocenić wyjściowy poziom wirēmii. Te dwa czynniki są niezależnymi wskaźnikami prawdopodobieństwa eliminacji HCV; umożliwiają rokowanie wyników leczenia, optymalizację

schematu i czasu leczenia oraz ocenę jego skuteczności. Istotne – wykazano, że poziom wirēmii nie jest skorelowany ani z zaawansowaniem zakażenia ani stopniem uszkodzenia wątroby.

Schemat aktualnie zalecanego algorytmu decyzyjnego, zaakceptowanego także w Polsce, przedstawiono na Rycinie I. Ocena ilościowa wirēmii w 12 tygodniu terapii u pacjentów zakażonych genotypem innym niż 2 lub 3 umożliwia identyfikację pacjentów z małym prawdopodobieństwem trwałego wyleczenia. Wartością pożądaną jest spadek wirēmii o co najmniej 2log₁₀. Wyniki licznych badań klinicznych dowodzą, że eliminacja wirusa następuje jedynie u 3% pacjentów, u których spadek wirēmii jest mniejszy. Tak niski odsetek nie uzasadnia kontynuacji leczenia zarówno ze względów medycznych (objawy niepożądane), jak i ekonomicznych. Zgodnie z przyjętymi ustaleniami przerywa się leczenie tej grupy pacjentów i proponuje terapię alternatywną¹⁵. W przypadku pacjentów zakażonych genotypem 2 lub 3 zalecane jest wykonanie jedynie jakościowego testu RT PCR w 24 tygodniu, po zakończeniu leczenia. Wynik ujemny oznacza eradykację HCV.

Zakończenie

Biologia molekularna umożliwiła szybką identyfikację i charakterystykę HCV oraz

opracowanie wiarygodnych testów serologicznych. Jednak dopiero metody genetyczne zapewniają pełne opisanie wariantów genetycznych zakażających pacjenta, ich ewolucję, rokowanie szans wyleczenia oraz monitorowanie terapii. Udoskonalenie testów genetycznych umożliwiło zastosowanie ich jako testów potwierdzenia.

Upowszechnienie przedstawionych metod znacznie zwiększa możliwości diagnozowania zakażeń HCV oraz racjonalizacji leczenia. Powszechnie uznaje się typ genetyczny HCV oraz wyjściowy poziom wirēmii za podstawowe, niezależne czynniki określające wyniki leczenia^{16,17}. Aktualne dane sugerują, że największe szanse wyleczenia mają pacjenci zakażeni genotypem innym niż 1a/1b, z niskim poziomem wirēmii (<10⁴ IU/mL), przed 50 rokiem życia¹⁸. Niestety, ani rozwój technik badawczo-diagnostycznych, ani coraz pełniejsze poznanie biologii HCV nie umożliwiły dotychczas poznania tych cech HCV, które jednoznacznie ułatwiłyby kwalifikowanie pacjentów do skutecznego leczenia.

Przedstawione techniki diagnostyki genetycznej są szybkie, czułe i swoiste. Racjonalnie stosowane, choć znacznie droższe od testów klasycznych, powinny w efekcie końcowym obniżyć całkowite koszty leczenia.

Piśmiennictwo dostępne w redakcji.

Nowoczesny marker kościotworzenia

Wartość diagnostyczna N-końcowego propeptydu prokolagenu typu I (PINP)

Elżbieta Karczmarewicz, Roman Lorenc, Zakład Biochemii i Medycyny Doświadczalnej, Instytut „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

Wstęp

Biochemiczne markery obrotu kostnego są fragmentami białek strukturalnych kości (lub produktami ich degradacji) oraz enzymami i białkami uwalnianymi do krążenia w czasie aktywności metabolicznej komórek kościotworzenia – osteoblastów oraz komórek resorpcji kości – osteoklastów. Kolagen typu I stanowi 90% organicznej części tkanki kostnej. Dlatego też cząsteczki uwalniane podczas jego syntezy (propeptydy prokolagenu typu I) to ważne markery kościotworzenia. Należą do nich PINP (N-końcowy propeptyd prokolagenu typu I) i PICP (C-końcowy propeptyd prokolagenu typu I). Zmiany stężenia tych markerów w surowicy krwi mogą świadczyć o trzech składowych metabolizmu kości: zwiększeniu ilości miejsc przebudowy (ang. BRU – bone remodeling unit), wydłużeniu fazy kościotworzenia w jednostkach przebudowy, uruchomieniu procesów kościotworzenia niezależnie od miejsc przebudowy (na powierzchni beleczek kostnych, powierzchni podokostnowej kości korowej, powierzchni kości korowej od strony jamy szpikowej).

Charakterystyka PINP

Według ustaleń na Światowym Kongresie Osteoporozy 2000 do nowoczesnych markerów kościotworzenia zaliczony został N-końcowy propeptyd prokolagenu typu I (PINP), (ang. Procollagen I Aminoterminal Propeptide).

PINP jest peptydem uwalnianym w czasie syntezy kolagenu z cząsteczki prokolagenu typu I od końca N (aminoowego) (rys. 1.), zanim cząsteczka kolagenu zostanie ostatecznie uformowana i wbudowana we włókna kolagenowe. Obecny

w krążeniu PINP wskazuje więc bezpośrednio na liczbę nowoutworzonych cząsteczek kolagenu wbudowanych w tkankę.

PINP to cząsteczka o kształcie wydłużonym, ufosforylowana, o masie cząsteczkowej 35 000 daltonów. Metabolizowana jest w komórkach wątroby. Czas półtrwania PINP we krwi wynosi kilka minut. Zmienność okołodobowa nie przekracza 25%, największe stężenie występuje w drugiej połowie nocy. Nie jest to marker wysoce swoisty, gdyż może pochodzić także ze skóry, mięśni i innych tkanek.

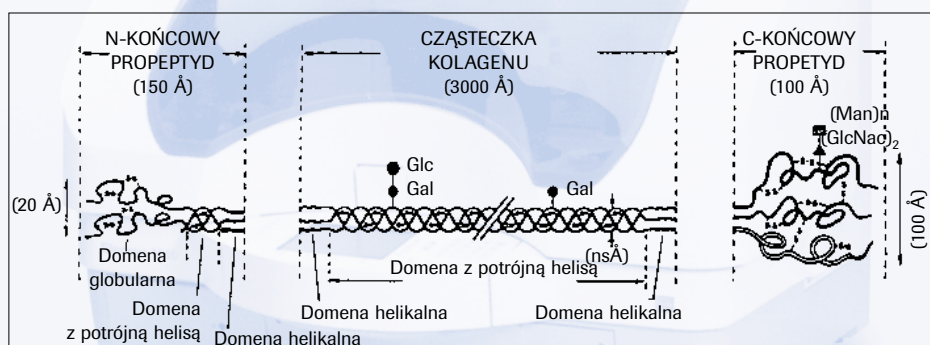
Wysoce specyficzna metoda automatyczna, z wykorzystaniem analizatorów ELECSYS, pozwala na oznaczenie cząsteczki PINP przy pomocy metody elektrochemiluminescencyjnej u pojedynczego pacjenta w ciągu 18 minut. W metodzie tej, analityczny współczynnik zmienności (CV a), dla próbek pobranych na czczo, między godziną 8 a 10 rano, wynosi 1,7%. Wewnątrzsobniczy biologiczny współczynnik zmienności (CV i) wyznaczony dla PINP wynosi 10,6%, a najmniejsza znacząca klinicznie zmiana (LSC – ang. least significant change) 25%.

Interpretacja kliniczna badań z wykorzystaniem PINP

1. Identyfikacja ryzyka szybkiej utraty masy kostnej

Zwiększenie ilości miejsc przebudowy tkanki kostnej, związane z wyłączeniem wpływu estrogenów, jest głównym czynnikiem podwyższonego ryzyka złamań u kobiet po menopauzie. Dochodzi wówczas nie tylko do przyspieszonej utraty masy kostnej mierzonej metodami densytometrycznymi (BMD), ale również do zmian mikroarchitektury kości beleczkowej i korowej.

Związek między stężeniem PINP a wartością BMD wykazano u kobiet po 60 roku życia. Podwyższone stężenie PINP powyżej 95 percentyla normy dla kobiet premenopauzalnych (> 58 µg/L surowicy) wskazuje na patologicznie przyspieszony metaboliczny obrót kostny u kobiet po menopauzie. Kobiety te są zagrożone 4–6 krotnie szybszą utratą masy kości przedramienia. Wskazaniem do badań diagnostycznych w kierunku przyspieszonego metabolicznego obrotu kostnego z użyciem PINP u kobiet po menopauzie są przebyte nieurazowe zła-



Rysunek 1. Cząsteczka prokolagenu typu I to potrójna helisa składająca się z 2 łańcuchów polipeptydowych alfa1(I) i jednego łańcucha alfa 2(I). Specyficzne proteazy odcinają N-końcowy propeptyd (PINP) i C-końcowy propeptyd (PICP), pozostawiając domenę z potrójną helisą, która utworzy cząsteczkę kolagenu typu I.

manie, zniekształcenia kręgow kręgosłupa (bezobjawowe złamania kręgow), badania densytometryczne wskazujące na osteopenię według kryteriów WHO.

2. Monitorowanie leczenia preparatami antyresorpcyjnymi

Do leczenia osteoporozy powszechnie stosowane są preparaty antyresorpcyjne, takie jak: bisfosfoniany, estrogeny (hormonalna terapia zastępcza), oraz raloksyfen (selektywny modulator receptora estrogenowego – SERM). Ich efektywność terapeutyczną mierzy się obniżeniem częstości występowania złamań kręgosłupa, biodra lub części obwodowych szkieletu. Analiza dużych badań klinicznych wykazała, że już po 1 roku leczenia alendronianem i raloksyfenem ryzyko złamania kręgosłupa spada odpowiednio o 45% i 40%. Udowodniono, że obniżenie metabolicznego obrotu kostnego, mierzone zmniejszeniem stężenia PINP w surowicy już po 6 miesiącach leczenia, koreluje z efektem przeciwlamaniowym manifestującym się po roku terapii. Po leczeniu raloksyfenem obserwowano średni spadek stężenia PINP o 41% w stosunku do wartości przed leczeniem, a w przypadku alendronianu średnio o 51%. U poszczególnych pacjentów obniżenie stężenia PINP musi być większe od LSC, to znaczy przekraczać znacząco 25% po 6 miesiącach terapii. Uznaje się obecnie, że w przypadku terapii antyresorpcyjnych, monitorowanie efektu leczenia przy pomocy markerów obrotu kostnego jest szybszym i tak samo ważnym parametrem klinicznym jak pomiar gęstości mineralu kostnego (BMD).

3. Monitorowanie leczenia anabolicznego

Parathormon (PTH) jest zarejestrowanym w Polsce lekiem anabolicznym w leczeniu osteoporozy. Obniża on ryzyko złamania kręgow o 90%, a w innych lokalizacjach o 50%. Wartość BMD dla kręgosłupa rośnie o 9,7%, a dla biodra o 2,6%. W kości beleczkowej na skutek stymulacji kościotworzenia zwiększa się grubość beleczek oraz poprawia ich usieciowanie. W kości korowej stymulacja kościotworzenia podokostnowego i resorpcja od

Elecsys total PINP, Nr kat. 3 141 071

materiał	surowica lub osocze (20 µl)
czas oznaczania	18 min
zakres pomiarowy	5,0–1200,0 µg/L
oznaczanie na analizatorach	Elecsys 1010, Elecsys 2010, Modular E
wartości prawidłowe	mediana (5–95 percentyl)
kobiety przed menopauzą	27,8 (15,1–58,6) µg/L
kobiety po menopauzie, bez HTR	42,9 (20,2–76,3) µg/L
kobiety po menopauzie, z HTR	28,4 (14,3–58,9) µg/L
HTR – hormonalna terapia zastępcza	
Test już dostępny w sprzedaży !!!	

strony jamy szpikowej korzystnie zmienia geometrię kości długich poprzez zwiększenie ich promienia, bez zmiany grubości – w ten sposób poprawia się wytrzymałość mechaniczną. Zmiany stężenia markera kościotworzenia PINP obserwujemy już po 1–3 miesiącach od rozpoczęcia terapii. Są to zmiany przekraczające 100% wartości przed leczeniem, które u wszystkich badanych przewyższały LSC dla tego markera, czyli 25%. Wzrost stężenia PINP wyprzedza w czasie stymulację procesów resorpcji. Wydaje się, że wzrost stężenia PINP wiąże się z efektem przeciwlamaniowym PTH, dzięki czemu, wydaje się bardzo obiecującym parametrem wczesnego monitorowania efektu anabolicznego tego hormonu.

4. Rola PINP w ocenie przerzutów nowotworowych do kości

Kość jest częstym miejscem przerzutów nowotworowych. Przerzuty powodują destrukcję kości lub nowe ogniska tworzenia kości. Proces niszczenia kości odbywa się za pośrednictwem czynników produkowanych lub indukowanych przez komórki guza, z kolei substancje te aktywują osteoklasty (przerzuty osteolityczne) bądź osteoblasty i osteoklasty (przerzuty osteosklerotyczne). W przypadku nowotworów najczęściej występujących w populacji dorosłych (rak sutka, prostaty i płuc), przerzuty do kości mają miejsce u 30–75% pacjentów. Przerzuty do kości są poważnym powikłaniem związanym z bólem i zwiększoną śmiertelnością.

W ocenie wartości diagnostycznej danego testu ilościowego spotykamy się z pojęciem czułości i specyficzności. Czułość testu odnosi się do jego zdolno-

ści prawidłowego, pozytywnego, diagnozowania pacjentów „chorych”, sklasyfikowanych przy pomocy testu referencyjnego. Specyficzność testu odzwierciedla jego zdolność diagnozowania (negatywnego) przypadków, u których zgodnie z testem referencyjnym stan patologiczny nie występuje. Wartość diagnostyczna PINP w identyfikacji pacjentów z przerzutami i bez przerzutów, w przypadku pacjentów z nowotworem prostaty okazała się najwyższą spośród wielu innych badanych parametrów (100% czułości i 100% specyficzności). Wykazano, że stężenie PINP w surowicy w zakresie od 10,8 do 76 µg/L ze 100% pewnością identyfikuje pacjentów bez przerzutów nowotworu prostaty do kości. **Stwierdzenie u pacjenta stężenie PINP w zakresie od 128 do 1992 µg/L pozwala ze 100% pewnością stwierdzić, że wystąpiły u niego przerzuty nowotworu prostaty do kości.**

Badania przeprowadzone u 373 kobiet z nowotworem sutka wykazały wysoką korelację między stężeniem PINP w surowicy a szansami przeżycia, wielkością guza oraz jego aktywnością nowotworową.

Podsumowanie

PINP jest czułym i specyficznym markerem procesów kościotworzenia w metabolizmie kostnym. Może być wykorzystywany zarówno do identyfikacji czynników ryzyka zagrożenia złamaniami, monitorowania leczenia preparatami antyresorpcyjnymi i anabolicznymi, jak również w diagnostyce przerzutów nowotworowych do kości.

Piśmiennictwo dostępne w redakcji.

Wskaźniki surowicze (*SERUM INDICES*)

Możliwości identyfikacji hemolizy, lipemii oraz żółtaczki na analizatorach biochemicznych z rodziny Cobas INTEGRA oraz Roche/Hitachi

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

Lipemia jest definiowana jako zmętnienie próbki widoczne nieuzbrojonym okiem. Zwykle występuje przy stężeniu triglicerydów przekraczającym 300 mg/dL (>3,4 mmol/L), zależy ona także od wielkości cząstek lipidowych występujących w próbce. (Ryc. 1.)

Hemoliza widoczna nieuzbrojonym okiem występuje przy stężeniu Hb przekraczającym 300 mg/dL (18,8 mmol/L).

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

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

Serum Indices (SI) służą do ilościowej oceny czynników wpływających na ostateczny wynik analizy. Dzięki instalacji *Serum Indices* na analizatorach z rodziny Cobas INTEGRA i Roche/Hitachi można ocenić lipemię (L), żółtaczkę (I) oraz hemolizę (H) poprzez pomiar absorbancji z wykorzystaniem próbki badanej oraz 9% roztworu chlorku sodu na analizatorach Cobas INTEGRA lub 0,9% roztworu NaCl na analizatorach Roche/Hitachi. Do wyliczania indeksów lipemii **L**, żółtaczki **I** oraz hemolizy **H** służą odpowiednie wzory. Oznaczenia wskaźników surowiczych mogą być wykonane w jednostkach konwencjonalnych lub SI.

Pomiar *Serum Indices*

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

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

Analizator automatycznie wylicza z odpowiednich wzorów wyniki L, H na podstawie zmierzonej absorbancji.

Jak dokładne są wyniki *Serum Indices*?

Oznaczenie hemolizy i żółtaczki dobrze koreluje z jej stężeniem w próbce badanej.

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

Interpretacja wyników

Do oceny uzyskanych wyników SI należy skorzystać z rozdziału „Ograniczenia – substancje interferujące” zawartego w każdej ulotce metodycznej. Znajdują się tu informacje o wpływie hemolizy, żółtaczki czy lipemii na wynik określonego parametru.

W celu ułatwienia interpretacji powyższe dane są dostępne także w formie zbiorczej tabeli.

Postępowanie w przypadku przekroczenia *Serum Indices*

Przekroczenie wartości SI powinno wykluczyć próbkę z analizy. W takiej sytuacji materiał powinien być ponownie pobrany. Spo-

sób postępowania indywidualnie ustala każde laboratorium. Należy uwzględnić także wiek pacjenta, w przypadku próbek pochodzących np. od noworodków czy dzieci.

Stosowanie SI do innych niż surowica i osocze płynów biologicznych

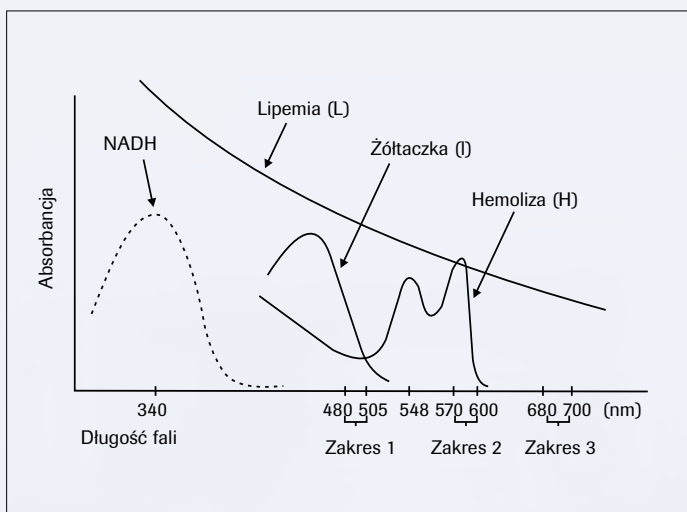
W moczu, płynie mózgowo-rdzeniowym i innych materiałach biologicznych nie zaleca się stosowania SI, ze względu na odmienność warunków spektrofotometrycznych.

Instalacja tej funkcji jest dostępna na życzenie na analizatorach z rodziny Cobas INTEGRA i Roche/Hitachi.

Podsumowanie

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

Piśmiennictwo dostępne w redakcji.



Ryc. 1. Mierzony wskaźnik surowicy (S)



Kasety odczynnikowe Cobas INTEGRA

Ocena nowego automatycznego analizatora hematologicznego Sysmex XT-2000i

Wim van der Meer, Jacqueline MB Dinnissen i Marinus H de Keijzer, Departament Chemii Klinicznej, Uniwersyteckie Centrum Medyczne Nijmegen, Holandia

XT 2000i jest niedawno wprowadzonym na rynek zautomatyzowanym analizatorem hematologicznym, którego oceny dokonano w okresie trzech miesięcy. Do pomiaru stężenia hemoglobiny (HGB) wykorzystuje metodę laurylosiarczanu sodowego (SLS), natomiast krwinki czerwone (RBC, RBC-I) oraz płytki krwi (PLT, PLT-I) liczone są metodą impedancji (konduktometria). Leukocyty (WBC), retikulocyty (RET), płytki krwi (PLT, pomiar optyczny; PLT-O) i krwinki czerwone (RBC, pomiar optyczny; RBC-O) liczone są metodą cytometrii przepływowej z użyciem polimetynowego barwnika fluorescencyjnego.

Przeanalizowano powtarzalność, zjawisko przenoszenia (carryover) i liniowość. Przeprowadzono porównanie z analizatorem Sysmex XE-2100 i przedstawiono porównanie przykładowego oflagowania. Rodzaj oflagowania został również sprawdzony w konfrontacji z różnicowaniem mikroskopowym zgodnie z zaleceniami Pań-

stwowej Komisji ds. Klinicznych Standardów Laboratoryjnych (NCCLS).

Współczynniki korelacji całkowitej liczby krwinek (CBC) i różnicowania automatycznego uzyskane poprzez porównanie z XE-2100 były dobre za wyjątkiem populacji retikulocytów. Czulość, specyficzność i efektywność różnego rodzaju oflagowań były porównywalne z różnicowaniami mikroskopowymi.

(Sysmex J Int 12:71-75, 2002)

Kluczowe słowa: Automatyczny analizator hematologiczny, XT-2000i, morfologia krwi pełnej (CBC), płytki krwi

Wstęp

Automatyczne analizatory hematologiczne coraz częściej są w stanie wykonywać znaczne ilości oznaczeń morfologii krwi, w tym automatycznie różnicować krwinki białe (WBC). Producenci sprzętu inwestują

na ogół w rozwój nowych technologii lub udoskonalanie już istniejących rozwiązań. Sysmex XT-2000i jest nowo opracowanym analizatorem hematologicznym opartym na takiej samej technologii co Sysmex XE-2100, lecz bez możliwości liczenia jądrzastych krwinek czerwonych (NRBC) i bez kanału IMI[®]. Hemoglobina (HGB) mierzona jest kolorymetryczną metodą z użyciem laurylosiarczanu sodowego (SLS). Leukocyty liczone są za pomocą pomiarów rozproszonego światła lasera z detektorów ustawionych pod różnymi kątami; a różnicowanie WBC oparte jest na połączeniu sygnałów z tych poszczególnych detektorów i sygnału polimetynowego barwnika fluorescencyjnego. Płytki krwi (PLT) i erytrocyty (RBC) są zazwyczaj liczone technologią impedancji (PLT-I, RBC-I), ale mogą być również liczone jak retikulocyty przy użyciu metody optycznej (sygnały z poszczególnych detektorów i sygnał fluorescencyjny; PLT-O, RBC-O). Retikulocyty (RET) liczone są poprzez pomiar rozprosz-

nego światła fluorescencyjnego, na zawartym w komórkach DNA/RNA, wybarwionym fluorescencyjnym barwnikiem polimetynowym. Analizator ma maksymalną wydajność 80 próbek na godzinę i zużywa 150 µL krwi w opcji wykorzystującej system zamknięty pobierania krwi, 85 µL z zastosowaniem systemu otwartego i 40 µL jeżeli badamy próbkę pobraną do kapilary. Analizator może pracować wykorzystując następujące konfiguracje wybranych wcześniej parametrów: morfologia krwi pełnej (CBC), CBC + różnicowanie (5 diff), CBC + RET i CBC + różnicowanie (5 diff) + RET.

Współzależność wartości morfologii CBC, automatycznego różnicowania WBC i danych RET została przedstawiona w stosunku do ich wartości z analizatora Sysmex XE-2100. Oflagowania sygnalizowane przez analizator przy różnicowaniu WBC zostały sprawdzone pod mikroskopem optycznym.

Materiały i metody

Testowany XT-2000i był analizatorem fabrycznie nowym, wcześniej sprawdzonym i dostrojonym przez producenta. W czasie oceny analizatora, w ramach codziennej kontroli jakości umieszczano te same próbki w XT-2000i jak i w XE-2100. Wszystkie próbki użyte do analiz były pobrane na antykoagulant K₂EDTA i oznaczane równolegle na obydwu analizatorach. Powtarzalność badano analizując wyniki 10 kolejnych oznaczeń pojedynczej próbki w trybie manualnym pracy analizatora. Oznaczenia wykonano dla następujących próbek: (a) **wartości** WBC, RBC, PLT, RET **poniżej normy**, (b) **mieszczące się** w normie WBC, RBC, PLT, RET, i (c) **wartości** WBC, RBC, PLT, RET **powyżej normy**.

Liniowość wyznaczono poprzez rozcieńczenie próbki z **dużą** liczbą krwinek (100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10%, 5%) w autologicznym osoczu osiągając następujące rozpiętości poszczególnych wartości:

RBC 0,38–8,27 x 10¹²/L

WBC 9,2–21,2 x 10⁹/L, i 0,75–8,72 x 10⁹/L

PLT 62–1287 x 10⁹/L, i 19–102 x 10⁹/L

RET 16–200 x 10⁹/L

Analiza zjawiska przenoszenia (*carry-over*) została przeprowadzona zgodnie z protokołem Międzynarodowej Rady ds.

Standardyzacji w Hematologii (ICSH) przy użyciu 3 próbek o **małych** i **dużych** wartościach WBC, RBC i PLT²⁾. Dla każdej próbki przenoszenie może być obliczone za pomocą wzoru:

$$\text{Przenoszenie (\%)} = \frac{l_3 - l_1}{h_3 - l_1} \times 100$$

gdzie l₁, l₂ i l₃, to pierwsza, druga i trzecia analiza próbki z **małą** liczbą krwinek, a h₁, h₂ i h₃, to pierwsza, druga i trzecia analiza próbki z **dużą** liczbą krwinek.

Aby porównać analizator przebadano 100 prawidłowych i 100 nieprawidłowych próbek z mieszaniną nieprawidłowych typów komórek, takich jak niedojrzałe białe krwinki i blasty, gdzie analizator wykonał pełne różnicowanie WBC na 5 subpopulacji. Dane zostały opracowane za pomocą podwójnego testu t i równań

regresji wg Passing-Babloka³⁾ i Bland-Altmana⁴⁾.

Porównanie flagowania generowanego przez XT-2000i i metod manualnych (różnicowanie 400 komórek przez dwóch techników, z których każdy dokonywał oceny 200 komórek) zostało dokonane poprzez wykonanie rozdziałów 100 prawidłowych i 100 nieprawidłowych próbek.

Wszystkie próbki zostały przetworzone w ciągu 6 godzin, wliczając w to przygotowanie rozmazu krwi. Rozmazy były barwione za pomocą metody May-Grünwalda-Giemsy. Mikroskopowa ocena wzoru odsetkowego 400 komórek była wykonana zgodnie z protokołem NCCLS H20-A5).

Czułość, swoistość i efektywność oflagowania zostały obliczone za pomocą następujących wzorów:

$$\begin{aligned} \text{Czułość: } & \frac{\text{prawdziwie dodatnie}}{\text{prawdziwie dodatnie} + \text{falszywie ujemne}} \times 100 \\ \text{Swoistość: } & \frac{\text{prawdziwie ujemne}}{\text{falszywie dodatnie} + \text{prawdziwie ujemne}} \times 100 \\ \text{Efektywność: } & \frac{\text{prawdziwie dodatnie} + \text{prawdziwie ujemne}}{\text{prawdziwie} + \text{prawdziwie} + \text{falszywie} + \text{falszywie}} \times 100 \\ & \quad \text{dodatnie} \quad \text{ujemne} \quad \text{dodatnie} \quad \text{ujemne} \end{aligned}$$

Tabela 1. Powtarzalność analizatora XT-2000i

Parametr	Jednostka	Wartość przeciętna	SD	CV%
WBC	x 10 ⁹ /L	1,78	0,03	1,90
WBC	x 10 ⁹ /L	6,29	0,09	1,44
WBC	x 10 ⁹ /L	17,14	0,36	2,10
RBC	x 10 ¹² /L	2,44	0,01	0,29
RBC	x 10 ¹² /L	3,78	0,03	0,75
RBC	x 10 ¹² /L	5,84	0,03	0,57
PLT-1	x 10 ⁹ /L	19,4	0,70	3,64
PLT-1	x 10 ⁹ /L	164,6	5,66	3,44
PLT-1	x 10 ⁹ /L	1109,7	14,83	1,34
PLT-O	x 10 ⁹ /L	21,2	0,83	3,90
PLT-O	x 10 ⁹ /L	189,2	5,66	2,99
PLT-O	x 10 ⁹ /L	1247,9	20,51	1,64
RET	%	0,16	0,08	53,03
RET	%	1,01	0,01	0,30
RET	%	3,97	0,16	3,92

W przypadku granulocytów pałeczkowatych użyliśmy w tej analizie kryteriów Holenderskiego Towarzystwa ds. Hematologii Laboratoryjnej, jak zostało to opisane wcześniej przez Lee et al.6): proponowane jest zmniejszenie proporcji z jednej drugiej do jednej trzeciej szerokości jądra, jako płatowatości granicznej, charakterystycznej dla granulocytu obojętno-chłonnego podzielonego. Wartość referencyjna dla granulocytów pałeczkowatych w krwi ludzkiej wynosi poniżej 7%. Ponad 6% granulocytów pałeczkowatych lub ponad 1% metamielocytów lub innych niedojrzałych granulocytów (IG) jest uważane za potwierdzenie przesunięcia w lewo.

Wyniki

Powtarzalność

Współczynniki zmienności (CV) dla wszystkich parametrów prezentowały dobre wyniki, a ich lista znajduje się w Tabeli 1. dla WBC, RBC, PLT-I, PLT-O i RET.

Przenoszenie

Dla WBC wartość przenoszenia wyniosła 0,12%, dla RBC 0%, a dla PLT-I i PLT-O odpowiednio 0% i 0,75%.

Porównanie XE-2100 i XT-2000i

Oceny dokonano poprzez wykonanie pomiaru 100 prawidłowych i 100 nieprawidłowych próbek morfologii z kombinacją oflagowania.

Wyniki przedstawione są w Tabeli 2. Ponadto, w celu dokonania porównania obydwu analizatorów sporządzono wykresy Bland-Altmana (Ryc. 1).

Liniowość

Dane liniowości dla próbek badanych na XT-2000i ukazały dobrą współzależność dla wszystkich komórek i są one przedstawione w Tabeli 3.

Porównanie zdolności flagowania patologii XE-2100 i XT-2000i

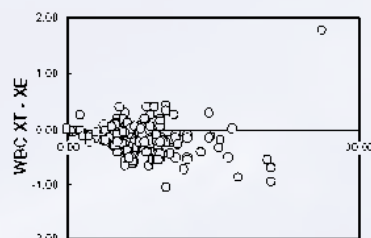
Porównanie informacji wynikających z flagowania obydwu analizatorów podsumowane jest w Tabeli 4. Ustawienia zakresu flagowania dla przekroczenia progów czułości przez populacje komórek, których obecność jest sygnalizowana (Q-fla-

Tabela 2. Porównanie analizatorów XE-2100 i XT-2000i dla rozpoznania różnicowego CBC, RET i WBC

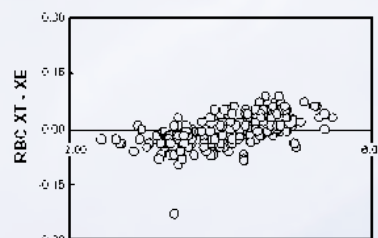
Parametr	Jednostka	Punkt przeciętna	Nachylenie	Współczynnik korelacji
WBC	$\times 10^9/L$	-0,0216	0,983	0,998
PLT-r*	$\times 10^9/L$	-4,38	1,020	0,992
PLT-I	$\times 10^9/L$	-1,79	1,013	0,992
PLT-O	$\times 10^9/L$	1,36	0,888	0,996
RBC	$\times 10^{12}/L$	-0,1515	1,035	0,998
HGB	mmol/L	-0,100	1,000	0,998
HCT	L/L	-0,0022	0,979	0,995
MCV	fL	-2,400	1,000	0,991
MCH	fmol/L	0,0102	1,015	0,987
MCHC	mmol/L	0,0400	1,000	0,914
RET	$\times 10^9/L$	-0,0014	1,315	0,976
RET-LFR	%	-17,047	1,176	0,899
RET-MFR	%	-0,859	1,206	0,846
RET-HFR	%	0,00	1,016	0,829
NEUT	$\times 10^9/L$	5,19	0,994	0,998
LYMPH	$\times 10^9/L$	0,62	0,962	0,995
MONO	$\times 10^9/L$	-0,99	0,776	0,957
EO	$\times 10^9/L$	0,0000	1,000	0,855
BASO	$\times 10^9/L$	0,0000	1,000	0,855

*PLT-r jest odnotowaną wartością liczbową. PLT-r oznacza wartość liczbową odnotowaną dla każdej próbki przez każdy analizator.

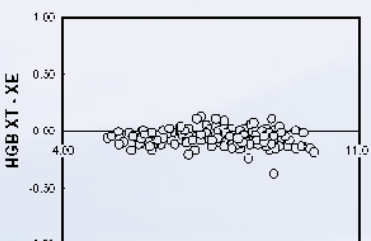
Może być to albo wartość PLT-I albo PLT-O, w zależności od tego która wartość uważana była za bardziej wiarygodną w każdym przypadku przez „przełączający się algorytm” w XE-2100 i XT-2000i.



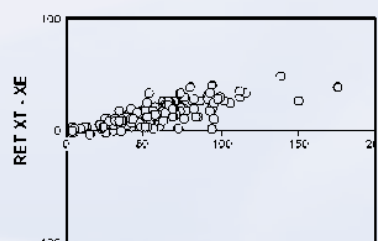
Średnia dla metody WBC



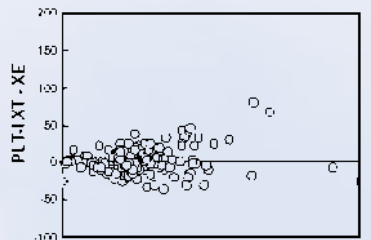
Średnia dla metody RBC



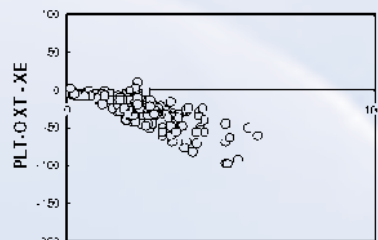
Średnia dla metody HGB



Średnia dla metody RET



Średnia dla metody PLT-I



Średnia dla metody PLT-O

Ryc. 1. Wykresy Bland-Altmana różnych parametrów do porównania XE-2100 i XT-2000i

gi) XT-2000i zostały zdefiniowane przez producenta, natomiast ustawienia dla XE-2100 zostały wykonane przez laboratorium oceniające.

Specyficzność i czułość oflagowania XT

Porównanie flagowania analizatora z mikroskopowym różnicowaniem 400 komórek podsumowane jest w Tabeli 5.

Dyskusja

W analizie tej oceniliśmy analizator Sysmex XT-2000i. Z prawie 500 przebadanych próbek reprezentatywnych dla rutynowej hematologii laboratoryjnej, oceniona została liniowość, powtarzalność i przenoszenie (zarówno w otwartym jak i kapilarnym systemie pobierania krwi). Wszystkie te cechy mogą być opisane w skali od satysfakcjonujących do doskonałych.

Co więcej, poszczególne parametry zmierzone przez XT-2000i były porównywane z pomiarami wykonanymi przez Sysmex XE-2100. Statystyczna analiza ujawniła, że korelacja była bardzo dobra, lecz zostały zaobserwowane różnice dla liczby RET i liczby optycznych płytek (PLT-O). Obydwa parametry otrzymywane są z tego samego kanału pomiarowego, a interesującą rzeczą jest fakt, że różnice narastają w sposób liniowy, wraz z wzrastającym stężeniem. Sugeruje to, że te różnice mogą być spowodowane niewłaściwą kalibracją. Jeśli chodzi o wykonywanie flagowania, stwierdzono, że w zasadzie obydwa analizatory działają identycznie.

Możliwości flagowania są jednakowe dla XT-2000i i XE-2100.

Sysmex XT-2000i może być bardzo użytecznym analizatorem w laboratoriach o różnej wielkości.

Piśmiennictwo

- 1) Briggs C. et al.: Performance evaluation of the Sysmex XE-2100 automated haematology analyser. *Sysmex J Int*, 9: 113–119, 1999
- 2) International Council for Standardization in Haematology (ICSH): Guidelines for evaluation of automated blood cell analyser including those used differential leukocytes and reticulocyte counting and cell marker applications. *Clin Lab Haematol*, 16: 157–174, 1994

Tabela 3. Liniowość analizatora XT-2000i

Parametr	Jednostka	Zasięg	r ²	Parametr	Jednostka	Zasięg	r ²
System otwarty				Kapilara			
RBC-I	x 10 ¹² /L	8,27–0,38	0,9987	RBC-I	x 10 ¹² /L	6,94–0,36	0,9937
RBC-O	x 10 ¹² /L	8,12–0,37	0,9995	RBC-O	x 10 ¹² /L	6,86–0,35	0,9931
HGB	mmol/L	15,0–0,7	0,9995	HGB	mmol/L	12,8–0,7	0,9939
PLT-I	x 10 ⁹ /L	1287–62	0,9954	PLT-I	x 10 ⁹ /L	1287–62	0,9946
PLT-I	x 10 ⁹ /L	102–19	0,9929	PLT-I	x 10 ⁹ /L	101–13	0,9822
PLT-O	x 10 ⁹ /L	1669–82	0,9954	PLT-O	x 10 ⁹ /L	1870–89	0,9975
PLT-O	x 10 ⁹ /L	101–13	0,9822	PLT-O	x 10 ⁹ /L	87–13	0,9591
WBC	x 10 ⁹ /L	219,2–9,2	0,9993	WBC	x 10 ⁹ /L	244,1–12,1	0,9948
WBC	x 10 ⁹ /L	8,72–0,75	0,9986	WBC	x 10 ⁹ /L	7,76–0,82	0,9960
RET	x 10 ⁹ /L	200,0–15,8	0,9552	RET	x 10 ⁹ /L	170,7–20,4	0,9485

Tabela 4. Porównanie flagowania analizatorów XE-2100 i XT-2000i

AL./ALB* ¹	XE		Blasty	XE		IG* ²	XE	
	–	+		–	+		–	+
XT –	207	4	XT –	208	6	XT –	151	3
XT +	9	1	XT +	8	8	XT +	3	43

LS* ³	XE		NRBC* ⁴	XE		PC* ⁵	XE	
	–	+		–	+		–	+
XT –	205	1	XT –	195	5	XT –	196	9
XT +	5	11	XT +	17	13	XT +	7	18

*1 AL./ALB = Atypowe limfocyty /Blasty; Flagi Q dla XE-2100 i XT-2000i = 160

*2 IG = Niedojrzałe Granulocyty Flagi Q dla XE-2100 i XT-2000i = 160

*3 LS = Lewe Przesunięcie Flagi Q dla XE-2100 i XT-2000i = 160

*4 NRBC = Jądrzaste krwinki czerwone. Wynikiem pozytywnym dla XT-2000i jest informacja wynikająca z flagowania; dla XE-2100 liczba NRBC ponad 0,5 % uważana jest za pozytywną

*5 PC = Agregaty Płytek Krwi

Tabela 5. Specyficzność i czułość flagowania analizatora XT-2000i

Flaga	Specyficzność (%)	Wrażliwość (%)	Wydajność (%)
Atypowe limfocyty /Blasty/	71,0	92,0	89,9
Blasty	96,6	100,0	96,0
Niedojrzałe granulocyty	79,7	100,0	81,3
Przesunięcie w lewo	95,6	70,4	92,6
NRBC	92,5	81,3	91,7
Podejrzewane flagi erytrocytów*	98,1	53,3*	95,2
Agregaty płytek	90,3	66,7	95,2

*Mikroskopowe kryteria dotyczące erytrocytów nie rozpoznawane przez analizator, w tym: sferocyty, eliptycyty, schistocyty, erytrocyty tarczowate, nakrapianie zasadochłonne erytrocytów.

- 3) Passing H, Bablok W: A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. *Clin Chem Clin Biochem*, 21: 709–720, 1983
- 4) Bland JM, Altman DG: Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet*, 346: 1085–1087, 1995
- 5) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Reference

leukocyte differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods; Approved standard NCCLS document H20-A, Villanova, P.A.

- 6) Lee GR, Foerster J, Lukens J, et al.: *Wintrobe's clinical hematology*. Ed 10. Baltimore, Williams & Wilkins, 1999

Tłumaczenie z Sysmex Journal International, wolumen 12, numer 2 (2002)