



Diagnostics

LabForum

*Roche Diagnostics Polska
laureatem nagrody
Kryształowego Kolibra*



Nr
10





Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. laureatem nagrody Polskiego Stowarzyszenia Diabetyków



Diagnostics

Szanowni Państwo,

Miłym akcentem kończącym rok ubiegły było przyznanie naszej firmie nagrody w kategorii „Urządzenie medyczne 2001 r.” przez Polskie Stowarzyszenie Diabetyków.

Nagrodą Kryształowego Kolibra uhonorowane zostało oprogramowanie komputerowe wspomagające leczenie cukrzycy Accu-Chek Compass (prezentowaliśmy ten produkt w poprzednim numerze LabForum). Warto zaznaczyć, że nie jest to pierwsze wyróżnienie przyznane przez PSD naszym produktom.

W tym roku wprowadzamy na rynek nowy glukometr Accu-Chek Active, charakteryzujący się najkrótszym czasem pomiaru i najmniejszą próbką krwi potrzebną do wykonania badania. Mamy nadzieję, że produkt ten spotka się z dużym zainteresowaniem pacjentów i lekarzy.

W bieżącym numerze LabForum pragnę zwrócić Państwa uwagę na pierwszy artykuł z cyklu „Diagnostyka chorób układu krążenia”. Diagnostyka serca i naczyń wieńcowych będzie naszym tematem przewodnim w tym roku. Tematykę tę poszerzamy artykułem o zastosowaniu oznaczeń białka C-reaktywnego.

Na pewno zainteresuje Państwa również artykuł z zakresu hematologii nt. diagnostyki anemii hemolitycznej. Polecam także artykuł dotyczący diagnostyki ludzkiego cytomegalowirusa przy wykorzystaniu nowoczesnej techniki PCR.

Życzę miłej lektury.

Z poważaniem,

Andrzej Banaszkiewicz

Dyrektor Generalny

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.

Spis treści:

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. laureatem nagrody Polskiego Stowarzyszenia Diabetyków	2
NT-proBNP – nowy parametr w diagnostyce niewydolności serca	3–5
CRP – nowe zastosowania od dawna znanego białka	6–7
Zastosowanie analizatora XE-2100 u chorych na anemię hemolityczną z obecnością zimnych przeciwciał	8–10
Ludzki Cytomegalowirus	11–12

Nasz adres:

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.;
Centrum Biurowe „Klif”
ul. Okopowa 58/72, 01-042 Warszawa

centrala: tel. 0-22/531 48 00
faks 0-22/531 48 22

serwis: tel. 0-22/531 48 45
faks 0-22/531 48 53
dział zamówień: tel. 0-22/531 48 30-35
faks 0-22/531 48 37

Internet: www.rochediagnostics.pl

Temat roku 2002

NT-proBNP – nowy parametr w diagnostyce niewydolności serca

Tomasz Kucharski, Roche Diagnostics Polska

W ostatnich latach międzynarodowe towarzystwa lekarskie wprowadziły w różnych dyscyplinach medycyny uaktualnione wytyczne postępowania i rekomendacje uwzględniające najnowsze osiągnięcia diagnostyczno-terapeutyczne. Coraz większą rolę zaczynają w nich odgrywać badania laboratoryjne, między innymi nowe parametry, których oznaczanie było jeszcze do niedawna zarezerwowane dla wąskiego kręgu specjalistycznych pracowni naukowych. Przykładem tego może być zastosowanie peptydów natriuretycznych w diagnostyce niewydolności serca.

Niewydolność serca

Niewydolność serca jest stanem, w którym następuje upośledzenie funkcji serca jako pompy, co powoduje niedostateczną podaż krwi w stosunku do obwodowego zapotrzebowania tkankowego. Przyczyną uszkodzenia mięśnia sercowego i jego niewydolności może być np. choroba reumatyczna, choroba niedokrwienna lub zawał serca, długotrwałe przeciążenie spowodowane nie leczonym nadciśnieniem tętniczym lub wadami zastawek czy działaniem czynników toksycznych. Istotną rolę w rozwijaniu się przewlekłej niewydolności serca odgrywają niektóre czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych: zaburzenia gospodarki tłuszczowej (hipercholesterolemia), palenie papierosów, nadciśnienie tętnicze, zaburzenia gospodarki węglowodanowej (cukrzyca) i otyłość [1].

Niewydolność krążenia pochodzenia sercowego, zwana też zastoinową niewydolnością krążenia (*Congestive Heart Failure – CHF*) występuje u 0,5% dorosłej populacji w wieku 35–64 lata, wzrasta do 1,0% w populacji powyżej 64 r.ż. i osiąga

w wieku >80 r.ż. odsetek ok. 10%. W pełni rozwinięta CHF powoduje wysoką śmiertelność – ponad 50% mężczyzn z CHF i bez mała 50% kobiet umiera w ciągu 5 lat, a 80% mężczyzn i 66% kobiet umiera w ciągu 10 lat trwania choroby [2].

Do oceny stopnia zaawansowania niewydolności serca stosuje się od dłuższego już czasu klasyfikację funkcjonalną NYHA (*New York Heart Association*) opartą na zależności pomiędzy występowaniem objawów klinicznych, a wielkością wywołującego je wysiłku (Tab. 1):

Tab. 1

NYHA	Opis i objawy
Klasa I	Bez duszności
Klasa II	Duszność podczas znacznego wysiłku
Klasa III	Duszność podczas niewielkiego wysiłku
Klasa IV	Duszność w spoczynku

Ostatnie wytyczne *American College of Cardiology* i *American Heart Association* postulują uzupełnienie klasyfikacji NYHA o bardziej wymierne i porównywalne wskaźniki rozwoju choroby i efektów leczenia [3].

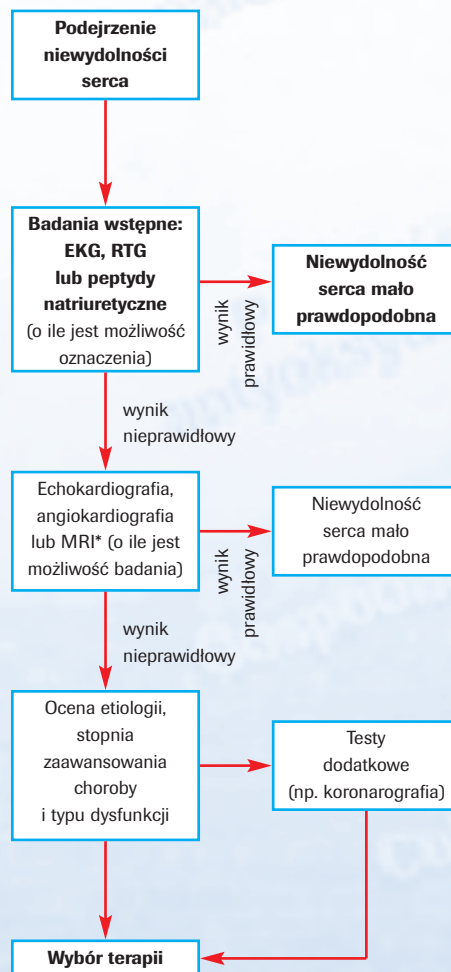
Diagnostyka niewydolności serca

Metody diagnostyki niewydolności serca podzielić można na dwie grupy:

1. Metody nieinwazyjne: EKG, zdjęcie RTG klatki piersiowej, echokardiografia, rezonans magnetyczny (jeśli jest dostępny) oraz badania laboratoryjne (peptydy natriuretyczne).

2. Metody inwazyjne: badania hemodynamiczne (cewnikowanie serca połączone z angiokardiografią i koronarografią).

W najnowszych standardach *European Society of Cardiology* [4] zaproponowano następujący algorytm diagnostyki niewydolności serca zawierający, oprócz oceny klasycznych objawów klinicznych, także ocenę obiektywną w oparciu o szereg wymiernych testów (Rys. 1). Jako test podstawowy do potwierdzenia / wykluczenia choroby postuluje się oznaczanie peptydów natriuretycznych.



(*) *Magnetic Resonance Imaging*

Rys. 1. Algorytm diagnostyki niewydolności mięśnia sercowego wg ESC

Peptydy natriuretyczne

Peptydy natriuretyczne to grupa hormonów peptydowych o podobnej budowie i działaniu, wpływających m.in. na zmniejszenie resorpcji zwrotnej sodu, rozkurcz naczyń obwodowych, hamowanie układu RAAS (renina – angiotensyna – aldosteron) oraz aktywności układu współczulnego, i w efekcie zmianę ciśnienia krwi. W ścisłym powiązaniu z innymi mediatorami biorą czynny udział w zachowaniu fizjologicznej równowagi i homeostazy wody, stężenia sodu oraz utrzymaniu ciśnienia krwi na stałym poziomie.

Grupa peptydów natriuretycznych obejmuje [5]:

– **ANP – przedsionkowy peptyd natriuretyczny, peptyd natriuretyczny typu A (Atrial Natriuretic Peptide, A-type Natriuretic Peptide):** odkryty w 1981 r., wydzielany głównie przez kardiomiocyty przedsionków serca,

– **BNP – mózgowy peptyd natriuretyczny, peptyd natriuretyczny typu B (Brain Natriuretic Peptide, B-type Natriuretic Peptide):** odkryty w 1988 r., wydzielany głównie przez kardiomiocyty komór serca,

– **CNP – śródbłonkowy peptyd natriuretyczny, peptyd natriuretyczny typu C (C-type Natriuretic Peptide):** odkryty w 1990 r., wydzielany przez śródbłonek naczyń krwionośnych.

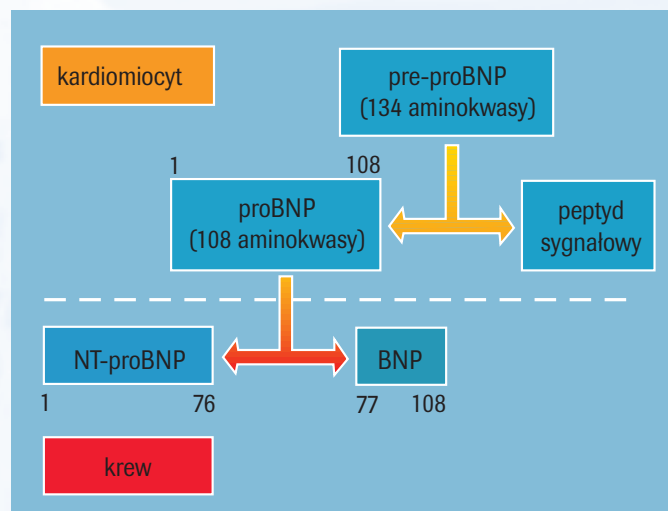
Te trzy peptydy wraz z odpowiadającymi im receptorami typu A, B i C zwane są

układem peptydów natriuretycznych, który wywiera złożony wpływ na serce, naczynia, mózg i nerki.

W trakcie rozwoju niewydolności serca następuje przeciążenie ciśnieniowe lewej komory prowadzące do przerostu i następnego osłabienia bądź wypadnięcia czynności skurczowej znacznego obszaru komory. Powoduje to nadmierne wydzielanie katecholamin, podwyższony poziom angiotensyny II i wazopresyny oraz następny wzrost wydzielania BNP (oraz w mniejszym stopniu ANP). Cały ten złożony mechanizm wzajemnych sprzężeń zwrotnych, w które zaangażowanych jest szereg układów (Rys. 2) ma na celu kompensację miejscową i obwodową postępującego upośledzenia czynności skurczowej serca [6, 7].

Biosynteza BNP

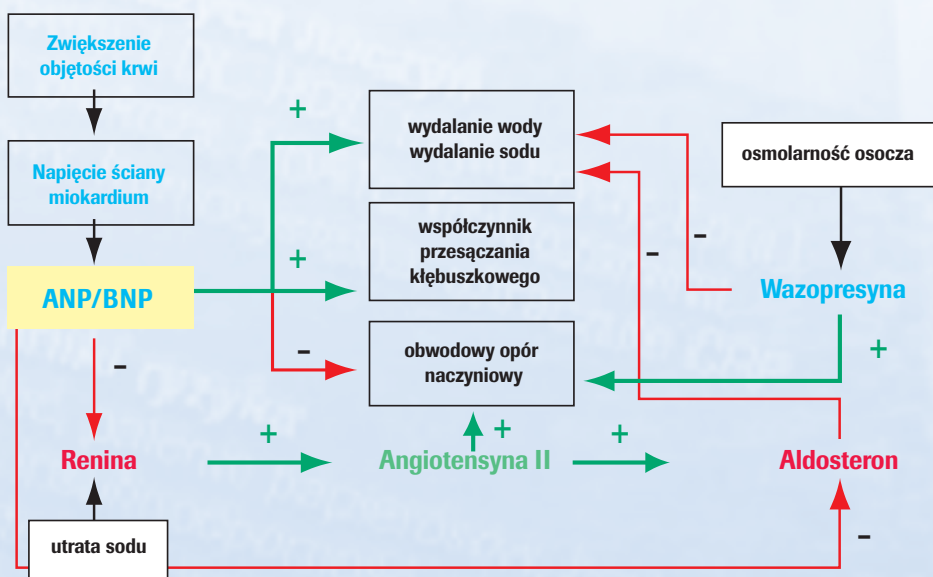
Aktywny biologicznie BNP produkowany jest i wydzielany przez kardiomiocyty komór serca. Prekursorem w biosyntezie BNP jest pre-proBNP (134 aminokwasy), który przez odcięcie fragmentu



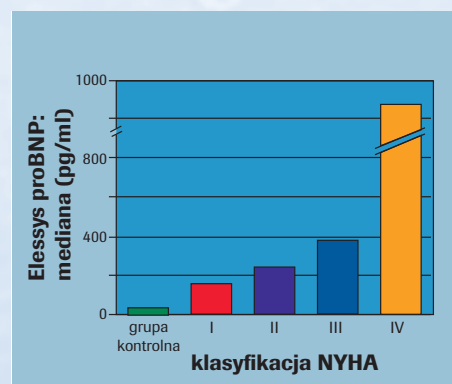
Rys. 3.

26-aminokwasowego tworzy proBNP (108 aminokwasów). Pod wpływem działania proteazy serynowej proBNP rozpada się na dwa łańcuchy peptydowe wydzielane przez kardiomiocyty do krążenia obwodowego: aktywną formę **BNP** (32 aminokwasy, 77–108) oraz **NT-proBNP (N-końcowy propeptyd natriuretyczny typu B – 76 aminokwasów, 1–76)** (Rys. 3).

Zarówno BNP jak i NT-proBNP mogą być oznaczane w surowicy lub osoczu metodami immunochemicznymi. Ze względu na większą stabilność i trwałość, większe stężenie we krwi obwodowej, brak wahań okołodobowych i ograniczeń dotyczących pobierania materiału oraz ok. 5-krotnie dłuższy okres półtrwania, NT-proBNP jest lepszym i bardziej wiarygodnym parametrem do oznaczania, a mającym taką samą wartość diagnostyczną jak oznaczanie formy aktywnej BNP [8, 9].



Rys. 2.



Rys. 4.

Szereg prac wykazało, że stężenie NT-proBNP jest podwyższone u pacjentów z niewydolnością lewej komory [10] oraz, że jego poziom koreluje ze stopniem zaawansowania choroby ocenianej wg klasyfikacji NYHA (**Rys. 4**). Z drugiej strony prawidłowy poziom NT-proBNP świadczy z dużym prawdopodobieństwem o braku upośledzenia czynności lewej komory serca (silna ujemna wartość predykcyjna) [3, 4].

Zastosowanie

Wzmożenie syntezy BNP występuje w szeregu schorzeń serca. Marker ten jest czułym wskaźnikiem przydatnym do:

- diagnostyki niewydolności lewokomorowej serca (LVD-Left Ventricular Dysfunction), nawet w bardzo wczesnej fazie bezobjawowej (I klasa NYHA) [11, 12],
- oceny frakcji wyrzutowej lewej komory serca (LVEF-Left Ventricular Ejection Fraction) [13],
- diagnostyki różnicowej duszności pochodzenia sercowego [14],
- diagnostyki i prognozowania zastoinowej niewydolności serca [15],
- rokowania po zawale serca [9, 25, 28],
- wczesnej diagnostyki niewydolności lewokomorowej po przebytym zawale serca [16],
- rokowania w ostrych zespołach wieńcowych [17],
- rokowania w nadciśnieniu płucnym [18],
- diagnostyki niewydolności serca u osób z nadciśnieniem [19],
- monitorowania skuteczności leczenia niewydolności serca [20, 21],
- diagnozowania osób z podejrzeniem rozwijającej się niewydolności serca (bardzo wysoka ujemna wartość predykcyjna) – umożliwia zastosowanie NT-proBNP przez lekarza pierwszego kontaktu [22, 23],
- diagnostyki różnych chorób pozasercowych, np.: przewlekłej niewydolności nerek, choroby wątroby, choroby ośrodkowego układu nerwowego [26, 27].

Podsumowanie

NT-proBNP jest przykładem tego jak szybko nowe parametry biochemiczne o potencjalnej wartości klinicznej znajdują uznanie i szerokie zastosowanie w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej. Niepełna kilkanaście lat od momentu odkrycia peptydy natriuretycznej zaliczone zostały do podstawowych testów służących do oceny niewydolności mięśnia sercowego. Wprowadzenie pierwszej w pełni zautomatyzowanej techniki oznaczania NT-proBNP jest też odpowiedzią na oczekiwania co do bardziej dokładnych i wiarygodnych metod pomiaru peptydów natriuretycznych [24].

Piśmiennictwo:

1. *Choroby wewnętrzne*, pod red. prof. F. Kokota, PZWL 1986, wyd. III.
2. W. B. Kannel, A. J. Belanger, *Epidemiology of heart failure*, *Am Heart J* 1991;121:951-7.
3. ACC/AHA Guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult, *Journal of the American College of Cardiology* (2001)38,7:2101-2113.
4. European Society of Cardiology – Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure, *European Heart Journal* (2001)22,15:1527-1560.
5. J. Mair et al., The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure, *Clin Chem Lab Med* (2001); 39:571-88.
6. D. G. Gardner et al., Natriuretic peptides, *NEJM* (1998)339:5:321-328.
7. R. W. Schrier et al., Hormones and hemodynamics in heart failure, *NEJM* (1999) 341:8:577-585.
8. A. Hammerer-Lercher et al., Head-to-head comparison of N-terminal pro-brain natriuretic peptide, brain natriuretic peptide and N-terminal pro-atrial natriuretic peptide in diagnosing left ventricular dysfunction, *Clin Chim Acta* (2001)310:193-197.
9. R. Kelly et al., Are natriuretic peptides clinically useful as markers of heart failure? *Ann Clin Biochem* (2001);38:94-102.
10. S. Talwar et al., Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and the ECG in the assessment of left-ventricular systolic dysfunction in a high risk population, *Eur Heart J* (1999) 20:1736-44.
11. Y. Hirata et al., Measurement of plasma brain natriuretic peptide level as a guide for cardiac overload *Cardiovascular Research* (2001)51:585-591.
12. A. S. Maisel Utility of B-Natriuretic Peptide Levels in Identifying Patients with Left Ventricular Systolic or Diastolic Dysfunction, *Am J Med* (2001);111:274-279.
13. N. Valli et al., Assessment of brain natriuretic peptide in patients with suspected heart failure: comparison with radionuclide ventriculography data, *Clin Chim Acta* (2001)306:19-26.
14. L. K. Morrison et al., Utility of a Rapid B-Natriuretic Peptide Assay in Differentiating Congestive Heart Failure from Lung Disease in Patients Presenting With Dyspnea, *J Am Coll Cardiol* (2002)39:202-9.
15. J. Koglin et al., Role of Brain Natriuretic Peptide in Risk Stratification of Patients With Congestive Heart Failure, *J Am Coll Cardiol* (2001)38:1934-41.
16. A. M. Richards et al., Neuroendocrine prediction of left ventricular function and heart failure after acute myocardial infarction, *Heart* (1999)81:114-120.
17. E. Braunwald et al., The Prognostic Value of B-Type Natriuretic Peptide in Patients with Acute Coronary Syndromes, *N Engl J Med* (2001)345:1014-21.
18. N. Nagaya et al., Plasma Brain Natriuretic Peptide as a Prognostic Indicator in Patients With Primary Pulmonary Hypertension, *Circulation* (2000);102:865-870.
19. M. Suzuki et al., Association Between Elevated Brain Natriuretic Peptide Levels and the Development of Left Ventricular Hypertrophy in Patients with Hypertension, *Am J Med* (2000)108:627- 633.
20. R. W. Troughton et al., Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations, *Lancet* (2000)355:1126-30.
21. B. Stanek et al., Prognostic Evaluation of Neurohumoral Plasma Levels Before and During Beta-Blocker Therapy in Advanced Left Ventricular Dysfunction, *JACC* (2001)38;2:436-42.
22. H. Niinuma et al., Plasma B-Type Natriuretic Peptide Measurement in a Multiphasic Health Screening Program, *Cardiology* (1998)90:89-94.
23. R. Hobbs, Can heart failure be diagnosed in primary care? *BMJ* (2000)321:188-9.
24. A. Clerico et al., Measurement of Cardiac Natriuretic Hormones (Atrial Natriuretic Peptide, Brain Natriuretic Peptide, and Related Peptides) in Clinical Practice: The Need for a New Generation of Immunoassay Methods, *Clin Chem* (2000) 46:10:1529-1534.
25. A. Luchner et al., N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide After Myocardial Infarction. A Marker Of Cardio-Renal Function, *Hypertension* (2002)39:99-104.
26. F. Mallamaci et al., Diagnostic potential of cardiac natriuretic peptides in dialysis patients, *Kidney Int* (2001)59:1559-1566.
27. Berendels et al., Secretion of brain natriuretic peptide in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage, *Lancet* (1997)349:245-249.
28. T. Omland et al., Prognostic Value of N-terminal Pro-Atrial and Pro-Brain Natriuretic Peptide in Patients With Acute Coronary Syndromes, *Am J Cardiol* (2002)89:463-465.

CRP

– nowe zastosowania od dawna znanego białka

Dariusz Sitkiewicz i Dariusz Jabłoński, Zakład Biochemii Klinicznej, Instytut Kardiologii im. Prymasa Tysiąclecia Stefana Kardynała Wyszyńskiego, Warszawa

W 1930 roku Tillet i Francis wykryli w surowicy krwi osób chorujących na zapalenie płuc obecność czynnika reagującego z polisacharydem C bakterii *Streptococcus pneumoniae*. Dopiero jedenaście lat później wykazano białkową naturę tego czynnika i nazwano go białkiem C-reaktywnym (CRP). Jest ono jednym z najczulszych, obok białka amyloidowego A (SAA), niespecyficznych białek ostrej fazy pojawiających się w osoczu jako odpowiedź na obecność czynnika zapalnego. Białka ostrej fazy biorą udział nie tylko w jego neutralizowaniu (opsonizacji) i ograniczaniu lokalnych uszkodzeń tkanki ale także w jej naprawie i regeneracji. Stężenie CRP wzrasta nawet 1000-krotnie w następstwie infekcji bakteryjnych, niedotlenienia, martwicy, urazu, oparzenia, w chorobach reumatycznych i chorobach nowotworowych. Niewielki, ale istotny wzrost stężenia CRP następuje w zawałe serca, chorobach wątroby, chorobach autoimmunologicznych oraz w otyłości, w drugiej połowie ciąży, u kobiet poddawanych hormonalnej terapii zastępczej, zażywających doustne środki antykoncepcyjne, palaczy tytoniu, a także wzrasta wraz z wiekiem. Stężenie CRP w surowicy krwi zależy przede wszystkim od syntezy *de novo*. Krótki okres półtrwania CRP (5–7 godz.) powoduje, że po ustaniu działania czynników wywołujących stan zapalny, jego stężenie w surowicy szybko powraca do wartości prawidłowych < 5 mg/L.

Białko C-reaktywne syntetyzowane jest w wątrobie pod wpływem czynników stymulujących, głównie prozapalnych cytokin, których podstawowym źródłem są makrofagi i limfocyty T. Sygnałem do transkrypcji DNA kodującego CRP w hepatocytach jest przede wszystkim IL-6 ale również IL-1 i α -TNF. CRP składa się

z pięciu identycznych podjednostek zawierających 206 reszt aminokwasowych każda i ciężarze cząsteczkowym 24 kD, co daje całkowity ciężar cząsteczkowy około 120 kD. Niekowalencyjnie związane podjednostki tworzą cykliczną, symetryczną, pentameryczną strukturę natywnego CRP. Na każdej podjednostce znajdują się dwa miejsca, do których mogą przyłączać się dwa jony Ca^{2+} , i które są odpowiedzialne za wiązanie podstawowego ligandu jakim jest fosfocholina. Miejsca te są również istotne w indukowaniu przekształceń konformacyjnych pod wpływem jonów wapnia prowadzących do zmian powinowactwa CRP do fosfocholiny, a także prawdopodobnie odgrywających rolę w aktywacji komplementu.

Kliniczne zastosowanie oznaczeń stężeń CRP sprowadzało się w przeszłości do diagnostyki, monitorowania i rokowania w wielu chorobach o ostrym przebiegu i często było traktowane jako „chemiczny” odpowiednik szybkości opadania krwinek czerwonych (OB). W rzeczywistości OB jest odzwierciedleniem poziomu szeregu innych białek jak fibrynogen, albuminy, immunoglobuliny. Ponadto, na szybkość opadania krwinek wpływają także inne czynniki nie związane z obecnością stanu zapalnego, takie jak: makrocytoza, sferocytoza, hipercholesterolemia, anemia i wiek. W praktyce jednak, znacznie częściej zlecano OB niż oznaczenie stężenia CRP. Wynikało to również z poglądu, iż stężenia CRP poniżej 10 mg/L nie mają istotnego znaczenia klinicznego. Większość dostępnych testów diagnostycznych nie pozwalało ponadto oznaczyć CRP poniżej tego stężenia. Dopiero opracowanie znacznie czulszych testów opartych na technice immunonefelometrycznej ze

wzmocnieniem lateksowym tzw. hs-CRP (*high sensitive* CRP) pozwoliło na oznaczanie nawet bardzo niskich stężeń tego białka w surowicy rzędu 0,05–0,1 mg/L. Wyzwoliło to ogromne zainteresowanie CRP jako wskaźnikiem umiarkowanego, miejscowego i długotrwałego procesu zapalnego. Jednocześnie zbiegło się to z udokumentowaniem istotnego udziału infekcji i procesów zapalnych w inicjowaniu i progresji miażdżycy i w konsekwencji patogenezie ostrych stanów wieńcowych. Wiele danych, zarówno doświadczalnych jak i klinicznych wskazuje niezbicie, że przewlekłe procesy zapalne uczestniczą w aterogenezie od samego początku, na etapie powstawania i rozwoju nacieków lipidowych aż do destabilizacji już uformowanej blaszki miażdżycowej. Zgodnie z współczesnymi poglądami, miażdżycą traktowana jest jako odpowiedź zapalna na uszkodzenie śródbłonnka naczyń powodowane przez liczne czynniki, jak np. podwyższone stężenia zmodyfikowanych LDL, homocysteinę, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę czy też infekcje bakteryjne (*Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*) lub wirusowe (CMV). Przewlekły proces zapalny prowadzi ponadto do zwiększenia podatności blaszki miażdżycowej na uszkodzenie, której konsekwencją jest jej pęknięcie i powstawanie zakrzepu wieńcowego odpowiedzialnego za objawową niestabilną chorobę wieńcową oraz ostry zawał mięśnia sercowego. Fakty te legły u podstaw przypomnienia sobie o, przez wiele lat zapomnianej, hipotezie sformułowanej już w początkach ubiegłego stulecia przez Sir Williama Oslera o infekcyjnym pochodzeniu miażdżycy. Zaplanowano i zrealizowano wiele ogromnych, prospektywnych badań epi-

demologicznych nad związkami pomiędzy CRP a ryzykiem rozwoju choroby niedokrwiennej serca (prewencja pierwotna) oraz rokowaniem u pacjentów po przebytych incydentach wieńcowych lub po zawale mięśnia sercowego (prewencja wtórna). Wyniki tych badań wskazują jednoznacznie na prognostyczną wartość CRP w odniesieniu do chorób sercowo-naczyniowych. Dowiodły one, że podwyższone stężenia CRP są niezależnym od innych, czynnikiem ryzyka zawału serca, udaru mózgu, miażdżycy tętnic obwodowych oraz zgonów sercowych u osób bez klinicznych objawów chorób układu krążenia. Okazało się także, że CRP zwiększa zdolność prognostyczną innych, klasycznych czynników ryzyka głównie lipidowych. Połączenie CRP o wysokiej czułości ze stosunkiem cholesterolu całkowitego (TC) do cholesterolu HDL (HDL/C) stało się podstawą zaproponowanego przez Rifai i Ridkera algorytmu oceny względnego ryzyka wieńcowego (Rifai N., Ridker P.M. *Clin. Chem.* 2001,47,28–30). Na podstawie badań Food and Drug Administration (Cardiovascular Risk Prediction) oraz Physician Health Study (PHS) i Women Health Study (WHS) utworzono pięć przedziałów (kwintyli) zarówno dla CRP jak i stosunku TC:HDL/C. Algorytm zakłada przyporządkowanie uzyskanych od indywidualnego pacjenta wyników do odpowiedniego kwintyla i następnie ocenienie względnego ryzyka wystąpienia cho-

roby niedokrwiennej serca. W prewencji pierwotnej proponowany poziom decyzyjny dla CRP wynosi 2,1 mg/L. Powstają jednak pytania: jak często oznaczać poziom CRP i jak wykluczyć wpływ niewielkich infekcji i stanów zapalnych. Na podstawie dotychczasowych doświadczeń rekomendowane jest następujące postępowanie: jeżeli otrzymany wynik oznaczenia znajduje się poniżej poziomu decyzyjnego może on być akceptowany i służyć jako podstawa do oceny ryzyka. W przypadku otrzymania wyniku wyższego, badanie powinno być wykonane powtórnie po okresie 3 do 6 tygodni.

Sugeruje się również, że CRP posiada wartość prognostyczną we wtórnej prewencji u pacjentów z niestabilną chorobą wieńcową. Okazało się także, że łączne oznaczenie CRP i troponiny (cTnT lub cTnI) u pacjentów z chorobą wieńcową dostarcza wielu istotnych dla dalszego postępowania informacji, dotyczących zarówno aktywności toczącego się procesu zapalnego jak i rozległości martwicy miokardium. Oznaczenie stężenia CRP wydaje się szczególnie istotne u pacjentów z prawidłowym poziomem troponin. Wykluczenie wysokiego ryzyka jest bardziej istotne niż identyfikacja pacjentów obciążonych takim ryzykiem. Z dotychczasowych badań wynika bowiem, że u 100% pacjentów zarówno CRP-negatywnych (CRP < 5 mg/L) jak i troponino-negatywnych (cTnI < 0,4 µg/L, cTnT < 0,1 µg/L)

nie wystąpiły żadne incydenty wieńcowe w okresie 6 miesięcy obserwacji.

Przedstawione dane wskazują, że CRP jest efektywnym wskaźnikiem prognostycznym rozwoju choroby niedokrwiennej serca, a także wystąpienia incydentów wieńcowych w stabilnej i niestabilnej dusznicy bolesnej. Pozostaje jednak nadal bez jednoznacznej odpowiedzi pytanie, czy CRP jest tylko markerem toczącego się procesu chorobowego czy może również odgrywać rolę sprawczą zarówno w mechanizmach patogenetycznych miażdżycy jak jej klinicznej manifestacji wraz z powikłaniami. W ostatnich badaniach wykazano udział CRP w procesach zapalnych, które towarzyszą zawałowi mięśnia sercowego. Białko to wiąże się z lecytyną błon uszkodzonych niedotlenieniem kardiomiocytów, a powstałe kompleksy aktywując klasyczną drogę dopełniacza nasilają zarówno zapalenie jak i tworzenie zakrzepów. Innym możliwym mechanizmem jest rola CRP w wychwytywaniu natywnych LDL przez makrofagi co prowadzi do tworzenia komórek piankowatych i powstawania wczesnych zmian miażdżycowych. Niezależnie jednak od przedstawionych, hipotetycznych poglądów na rolę CRP w patogenetycznym łańcuchu zdarzeń prowadzącym do ostrych zespołów wieńcowych, jego rola predykcyjna wydaje się niezaprzeczalna i otwiera nowe perspektywy dla tego od ponad 70-ciu lat znanego białka.

Oznaczenia CRP wykonywane są na analizatorach Roche Diagnostics: COBAS Integra 400, 700 i 800 Roche / Hitachi 902, 912 i 917 MODULAR ANALYTICS



COBAS Integra 800



Cobas Integra 400



Hematologia

Zastosowanie analizatora XE-2100 u chorych na anemię hemolityczną z obecnością zimnych przeciwciał cz. 1

Gurdun Stamminger i Lothar Beier

Instytut Medycyny Laboratoryjnej Kliniki w Chemnitz, Niemcy

Ocena próbek krwi pobranych od chorych z anemią autoimmunohemolityczną (z podwyższonym poziomem przeciwciał anty-I na erytrocytach) jest trudnym problemem dla automatycznych analizatorów hematologicznych. Dokładny pomiar liczby erytrocytów i ocena hematokrytu stają się niemożliwe z powodu agregacji erytrocytów, mającej miejsce w temperaturze poniżej 30°C. Oceniając analizator XE-2100 w naszym laboratorium przeanalizowaliśmy przypadek chorego z tym schorzeniem. W czasie pierwszych tygodni po przyjęciu chorego do Kliniki Hematologicznej obserwowaliśmy nasiloną agregację we wszystkich próbkach krwi pobranych od pacjenta z wyjątkiem podgrzanej do 37°C próbki krwi z EDTA. Chory otrzymał 13 przetoczeń podgrzanych, ubogoleukocytarnych krwinek czerwonych oraz Cyklosporynę A. W dwa tygodnie później aktywność przeciwciał anty-I obniżyła się. W wyniku leczenia anemia hemolityczna ustąpiła, co system oceny wykrył bardzo szybko, a parametry krwinkowe uległy poprawie.

Dzięki analizatorowi XE-2100 można było łatwo śledzić liczbę komórek jądrzastych linii erytroidalnej (NRBC) oraz retikulocytozę. W trakcie dwóch pierwszych tygodni liczba NRBC rosła, natomiast retikulocytoza pozostawała niska. W trakcie zdrowienia zaistniała sytuacja odwrotna – retikulocyty, a szczególnie ich najmłodsza frakcja, wzrosły znacznie, natomiast jądrzaste komórki erytroidalne znikły.

Kanał pomiarowy IMI umożliwił wykrycie agregacji płytek związanej z EDTA. Liczba płytek krwi uległa normalizacji po zastosowaniu heparyny, jako antykoagulantu.

W XE-2100 nowe metody liczenia i charakterystyki komórek krwi idą w parze

z dawno sprawdzonymi metodami. Z naszego punktu widzenia, obecnie analizator hematologiczny XE-2100 jest najlepszym systemem oceny u chorych z podwyższoną liczbą jądrzastych komórek erytroidalnych we krwi obwodowej jak to ma miejsce np.: w chorobie zimnych aglutynin.

(Sysmex J Int 10: 3–12, 2000)

Słowa kluczowe. Automatyczny analizator hematologiczny XE-2100, jądrzaste erytrocyty (NRBC), liczba retikulocytów, anemia hemolityczna z zimnymi przeciwciałami.

WPROWADZENIE

Obecność zimnych przeciwciał wywołuje szczególny rodzaj anemii hemolitycznej. Przeciwciała te należą do klasy IgM, są kompletne i wiążą dopełniacz. Są zwykle skierowane przeciw antygenowi „I” rzadziej „i” krwinek czerwonych. W warunkach normalnych przeciwciała te są aktywne tylko w temperaturze 4°C, ale w ciężkich przypadkach z wysokimi mianami przeciwciał ich zakres działania jest szerszy i może powodować aglutynację erytrocytów i ich hemolizę *in vivo*^{1,2)}.

Wyróżnia się dwie postaci choroby: pierwotna i wtórna. *In vivo* przeciwciała wywołują makroskopowo widoczną aglutynację krwinek czerwonych w temperaturze poniżej 37°C. Zjawisko to wywołuje szereg trudności w diagnostyce laboratoryjnej:

- 1) Problemy w oznaczaniu grupy krwi i wykonywaniu próby krzyżowej.
- 2) Pomiary dokonywane metodami fotometrycznymi mogą być zakłócone hemolizą.

- 3) Agregacja erytrocytów ujemnie wpływa na wyniki pomiarów liczby krwinek czerwonych, hematokrytu, innych wskaźników czerwonych krwinek oraz retikulocytozy^{2,3)}.

Laboratoryjne rozpoznanie choroby zimnych aglutynin³⁻⁶⁾.

- 1) Parametry morfologii krwi włączając liczbę retikulocytów, czerwonych krwinek oraz hematokryt są obniżone, MCV fałszywie zawyżony, a MCH i MCHC fałszywie zaniżone. Liczba retikulocytów może być zwiększona zależnie od fazy choroby i jej ciężkości. W zależności od ciężkości choroby znaleźć można wiele agregatów erytrocytarnych. Bezpośredni odczyn Coombsa (BOC) jest dodatni (uzupełnienie specyficznym C3D).
- 2) Miano przeciwciał anty-I wzrasta.
- 3) Mniej specyficzne dla choroby są: wzrost bilirubiny, LDH, AspAT, wolnej hemoglobiny w surowicy.
- 4) Obniża się poziom haptoglobiny.
- 5) Konieczne jest wykonanie punkcji szpiku dla oceny erytropoezy i wyjaśnienia przyczyny choroby (np. chłoniak). W większości przypadków następuje pobudzenie erytropoezy celem kompensacji hemolizy.
- 6) Diagnostyka mikrobiologiczna i wirusologiczna (możliwość infekcji Mykoplazmą lub EBV). Zakażeniu *Mycoplasma pneumoniae* towarzyszy czasem wzrost poziomu przeciwciał anty-I.

Leczenie

Unikanie zimna jest najważniejszym zaleceniem leczniczym. W razie potrzeby należy przetaczać ogrzane przemywane

i filtrowane ubogoleukocytarne preparaty krwinek czerwonych. Skuteczność leczenia można przewidzieć na podstawie odwrócenia trendu parametrów hemolizy oraz wzrostu stężenia hemoglobiny i hematokrytu³⁻⁶.

W trakcie oceny analizatora XE-2100 przyjęto do szpitala chorego (G.U.). Równolegle z badaniami rutynowymi wykonywanymi na analizatorze Sysmex SE-9500, próbki krwi chorego badano również na analizatorze XE-2100. Uzyskane wyniki oraz dyskusję przedstawiamy poniżej.

MATERIAŁY I METODYKA

Próbki

Do rutynowych pomiarów używano próbek krwi ogrzanych do temperatury 37°C pobranych na K2EDTA. W trakcie pobierania zauważono tworzenie agregatów płytkowych związane z EDTA, w związku z tym do dalszych pomiarów stosowano próbki krwi pobrane na heparynę. K2EDTA stosowano w przypadku próbek szpiku kostnego.

Metody

Do oceny morfologii krwi (CBC), komórek jądrzastych linii erytroidalnej i retikulocytozy używano analizatora XE-2100 (Sysmex Co., Kobe, Japan). Do oceny mikroskopowej rozmazów krwi obwodowej i szpiku stosowano barwienie metodą Pappenheima (May-Grunwald/Giemsa).

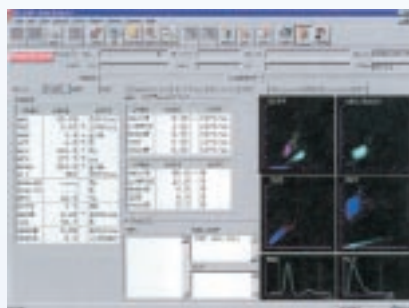
WYNIKI

Wszystkie parametry konieczne do rozpoznania choroby były podwyższone (**Tabela 1**). Bezpośredni test antyglobulinowy monospecyficzny (anty-C3D) był dodatni, a miano przeciwciał anti-I wynosiło 1:2056.

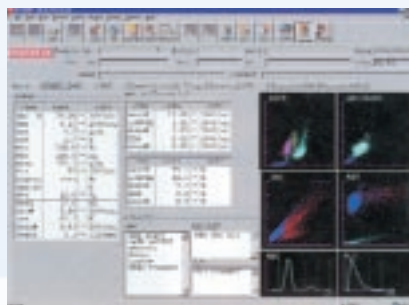
Ekran 1-5 są przykładami wyników pomiarów wykonywanych na analizatorze XE-2100 w różnych okresach trwania choroby. Liczba czerwonych krwinek, a także hematokryt w początkowym okresie nie mogły być podstawą rozpoznania. Wraz z rosnącą efektywnością leczenia wyniki stawały się bardziej wiarygodne.

Tabela 1. Wyniki chorego G.U. przy przyjęciu ważne dla rozpoznania choroby zimnych aglutynin

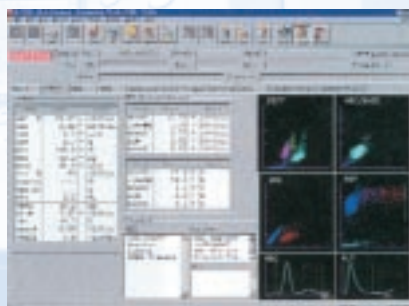
Badanie	Wynik pacjenta	Norma
Bilirubina całkowita	135,4 $\mu\text{mol/L}$	3,4–22,2 $\mu\text{mol/L}$
LDH	3672 U/L	300–600 U/L
AspAT	66,5 U/L	< 35 U/L
Wolna hemoglobina	64,4 g/dl	10–14,5 g/dl



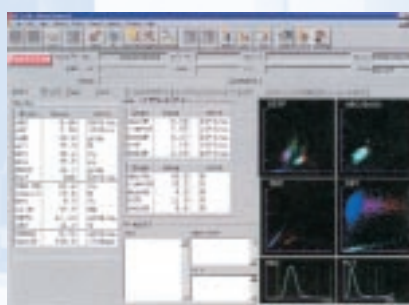
Ekran 1. Próbka 9 (27/07/99)



Ekran 2. Próbka 2 (02/08/99)



Ekran 3. Próbka 9921900755 (09/08/99)

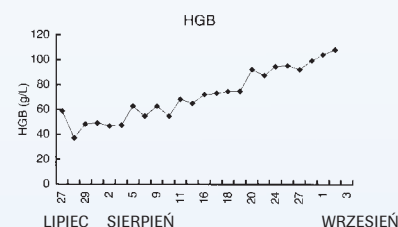


Ekran 5. Próbka 9924501604 (03/09/99)

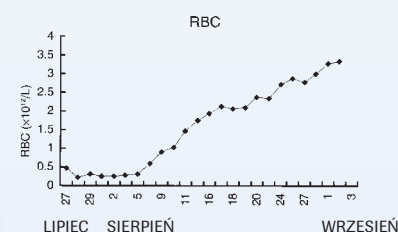
OCENA NA ANALIZATORZE XE-2100 – WYNIKI W OKRESIE: 26 LIPCA – 3 WRZEŚNIA

Hemoglobina (Wykres 1)

Stężenie hemoglobiny zmniejszyło się do 38 g/L w ciągu pierwszych dni po przyjęciu pacjenta z powodu aktywnej hemolizy. Wielokrotne przetoczenia płukanych filtrowanych preparatów krwinek czerwonych oraz leczenie cyklosporyną A powstrzymało hemolizę. Chory otrzymał 13 jednostek ubogoleukocytarnej masy erytrocytarnej grupy 0 RhD plus. Po dwóch tygodniach od przyjęcia stężenie hemoglobiny zaczęło rosnąć.



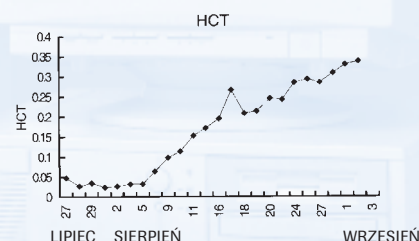
Wykres 1. HGB na XE-2100



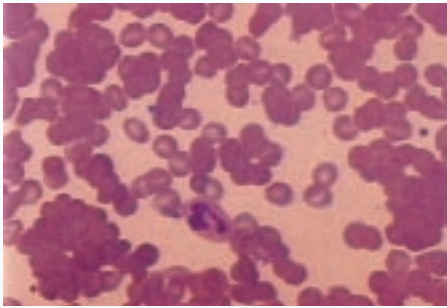
Wykres 2. RBC na XE-2100

RBC (Wykres 2), HCT (Wykres 3) (Zdjęcia 1–3)

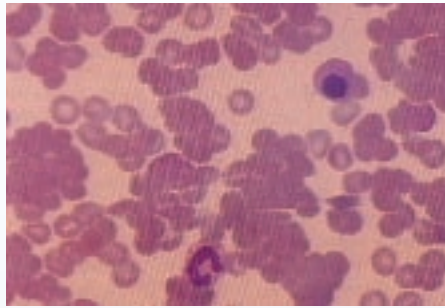
Z powodu masywnej agregacji erytrocytów zarówno ich liczba jak i hematokryt nie podlegały dokładnej ocenie. Po zapoczątkowaniu poprawy w dwa tygodnie po przyjęciu wyniki RBC i HCT zaczęły rosnąć. Podobne wyniki uzyskano za pomocą analizatorów SE-9500 i XE-2100.



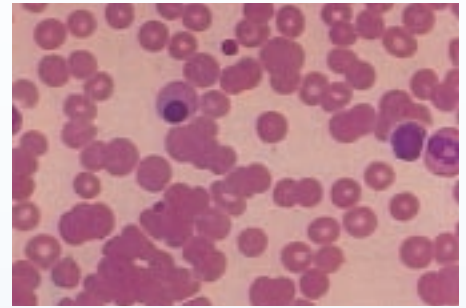
Wykres 3. HCT na XE-2100



Zdjęcie 1. Krew EDTA G.U. z 28/07/99



Zdjęcie 2. Krew EDTA G.U. z 01/08/99

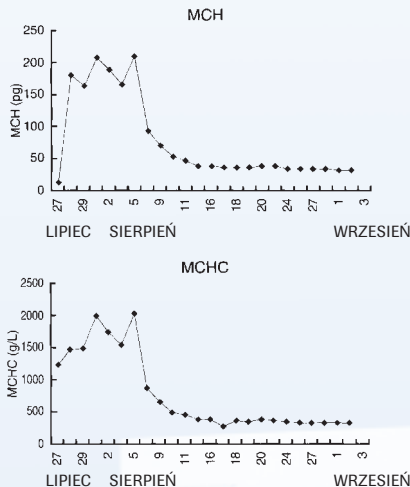


Zdjęcie 3. Krew EDTA G.U. z 10/08/99

MCH i MCHC (Wykres 4)

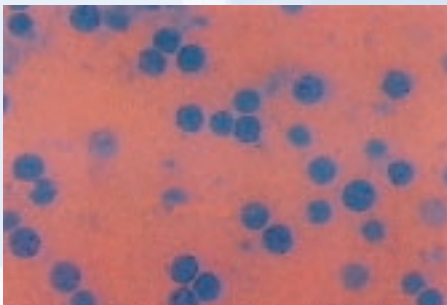
Wskaźnik Wintroba jasno oddaje postęp choroby. Początkowo MCH i MCHC były skrajnie wysokie, natomiast po skutecznym leczeniu powróciły do normy. Wykazano wysoką odtwarzalność otrzymanych wyników.

Retykulocyty (Wykres 5)

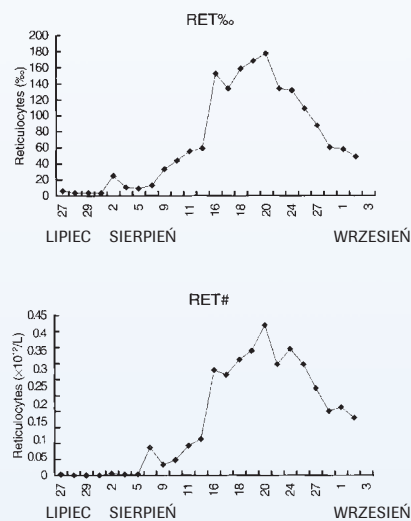


Wykres 4. MCH i MCHC na XE-2100

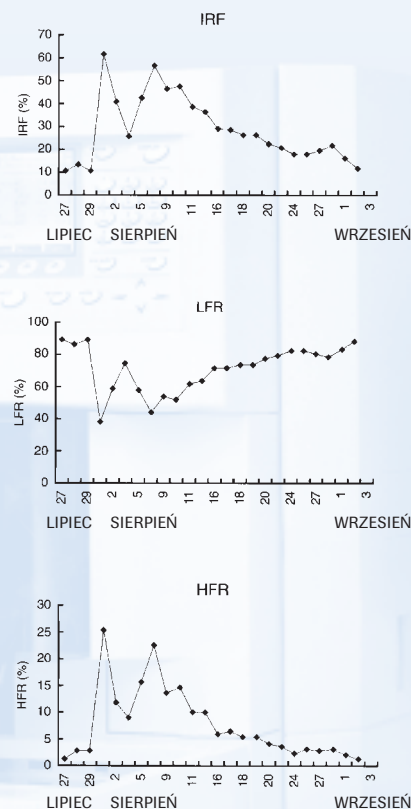
Po 8–10 dniach od przyjęcia wzrosła zarówno całkowita jak i względna liczba retikulocytów (patrz także **Zdjęcie 4**). W późniejszym czasie i podczas okresu zdrowienia obie liczby były, zgodnie z oczekiwaniami, wysokie. Za pomocą XE-2100 możliwe było monitorowanie obu wartości w sposób ciągły.



Zdjęcie 4. Retykulocyty barwione błękitem kresylu (18/08/99)



Wykres 5. Retykulocyty na XE-2100



Wykres 6. Frakcje retikulocytów na XE-2100

Szczególnie w pierwszych dniach obserwowano różną dojrzałość frakcji retikulocytarnych. Zjawisko to nie znajduje jak na razie swego wytłumaczenia. Częściowo odpowiedzialna za ten fakt może być obecność agregatów erytrocytarnych. Także tempo erythropoezy mogło być różne w tym okresie. Wysoka w początkowym okresie frakcja retikulocytów o wysokim wskaźniku fluorescencji (*high fluorescence ratio* HFR), spadła w okresie zdrowienia. Przez cały czas trwania choroby frakcja niedojrzałych retikulocytów (*immature reticulocyte fraction* IRF) podtrzymywała odwrócony stosunek wskaźnika niskiej fluorescencji (*low fluorescence ratio* LFR) populacji retikulocytów (**Wykres 6**).

Cd. w następnym numerze

Piśmiennictwo:

1. Metaxas-Buehler M: Blutgruppen und Transfusion, Verlag Hans Huber, pp. 393, 1994.
2. Kretzschmar V, Sonneborn HH: Blutgruppenantigene und antikoerper. In: L. Thomas (Ed.) Labor und Diagnose, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main, pp. 896, 1998.
3. Manual zum Mikroskopierkurs Haematologie, St. Antonius-Hospital Eschweiler, 1999.
4. Hoffbrand AV, Pettit JE, Hoelzer D: Roche Grundkurs Haematologie, Blackwell Wissenschafts-Verlag, pp. 89, 1997.
5. Hoffbrand A, Pettit JE: Color Atlas of Clinical Hematology, pp. 77, 1994.
6. Loeffler H, Rastetter J: Atlas der Klinischen Haematologie, Springer Verlag, 82, 1999.
7. Inoue H: Overview of automated hematology analyzer XE-2100, Sysmex J Int, 9 (1): 58–64, 1999.
8. Stammering G: Analytische Performance des XE-2100 unter besonderer Beruecksichtigung der NRBC-Zaehlung, lecture held on Sysmex Symposium, Duesseldorf, November 16., 1999.

Diagnostyka Molekularna

Ludzki Cytomegalowirus

Cytomegalowirus (CMV) jest szeroko rozpowszechnionym patogenem należącym do rodziny wirusów herpes. Częstość zakażeń wśród dorosłych w Europie i Ameryce Północnej wynosi średnio 50% (40–80%), a w Japonii i Afryce sięga 100%. Częstość zachorowań jest również powiązana ze statusem socjoekonomicznym i waha się od 40–50% w grupach z wysokim statusem socjo-ekonomicznym, do 90–100% dla grup o niskim statusie socjo-ekonomicznym w tzw. krajach rozwijających się. W przybliżeniu 2% noworodków na świecie jest zakażanych CMV wewnątrzmacicznie, z czego u 8–10% występują objawy cytomegalii. Wzrost przypadków zakażeń do 50% notuje się u noworodków w pierwszym roku ich życia.

Pierwsza infekcja CMV u większości pacjentów, jest łagodna lub bezobjawowa a faza przewlekła daje często nieistotne klinicznie objawy. Jednak w przypadkach infekcji wrodzonej, a także u pacjentów poddanych leczeniu immunosupresyjnemu zakażenie może stanowić problem kliniczny.

Cechą charakterystyczną CMV jest jego zdolność do pozostawiania w postaci utajonej u gospodarza po przebytej pierwszej infekcji i możliwość reaktywacji

zakażenia w późniejszym okresie. Proliferaacja wirusa jest hamowana przez prawidłowy układ immunologiczny człowieka, ale jego upośledzenie pozwala na replikację wirusa i rozwój objawów klinicznych choroby. A zatem, CMV jest niebezpiecznym patogenem dla pacjentów z wrodzonymi wadami lub nabytymi zaburzeniami odpowiedzi immunologicznej (np. w przebiegu chorób rozrostowych układu chłonnego lub zakażenia HIV) lub poddawanych immunosupresji (np. biorcy przeszczepianych organów i szpiku kostnego). Kliniczne objawy infekcji CMV są istotnie różne u każdej z podanych grup. U pacjentów chorych na AIDS najczęściej zakażenie CMV przebiega w postaci zapalenia siatkówki oka. Zapalenie płuc jest typowe dla pacjentów po transplantacjach.

Z powodu różnorodności objawów klinicznych związanych z czynnym zakażeniem CMV do potwierdzenia rozpoznania używa się następujących metod diagnostycznych: (1) detekcja wirusa w hodowli komórkowej, (2) detekcja antygenu wirusa, (3) detekcja kwasów nukleinowych, (4) detekcja swoistych przeciwciał. Każda z metod detekcji posiada swoje zalety i ograniczenia, które decydują o jej przydatności w diagnostyce po-

szczególnych etapów zakażenia CMV (patrz **Tabela 1.**).

Detekcja

Wirus w hodowli komórkowej

Wirus może być izolowany z moczu, krwi, śliny, mleka matki, płynu owodniowego (w przypadku diagnostyki prenatalnej), biopłatów tkankowych, popłuczyn pęcherzykowo-oskrzelowych. Konwencjonalna diagnostyka przez hodowlę komórkową polega na obserwacji cytopatologicznego efektu (CPE) cytomegalowirusa w hodowli komórkowej ludzkich fibroblastów, który rozwija się 5–7 dni, ale czasami jest widoczny dopiero po 2–6 tygodniach. Czas pojawienia się CPE jest prawdopodobnie zależny od stężenia wirusa w innokulum. Aby wzmocnić efekt zakażenia hodowli komórkowej w testach „Shell vial” innokulum poddaje się wirowaniu. Zainfekowane komórki wykrywa się metodą immunofluorescencyjną z zastosowaniem monoklonalnych przeciwciał skierowanych do wczesnych białek CMV. Wówczas analiza skraca się do 48 godz., osiągana czułość wynosi 70–93%, a swoistość 100%. Metoda ta jest krótsza od konwencjonalnej, ale nadal bardzo pracochłonna i mało czuła.

Antygen wirusa

Wykrycie infekcji CMV następuje w oparciu o identyfikację specyficznych białek strukturalnych wirusa – pp65 w granulocytach. Test jest szybki (czas pomiaru ok. 4–5 godz.), charakteryzuje się wyższą czułością, niż z hodowli komórkowej, która wynosi

Tabela 1. Metody diagnostyczne i ich wartość medyczna

	Materiał badany	Potwierdzenie przebytej infekcji	Identyfikacja aktywnej infekcji	Wskazanie do rozpoczęcia leczenia	Monitorowanie leczenia
Izolacja wirusa	BAL*, materiał z biopsji, leukocyty, mocz	---	+++	+	+
DNA (PCR – jakościowy)	BAL*, materiał z biopsji, leukocyty, mocz	---	+++	++	++
DNA (PCR – ilościowy)	leukocyty, surowica/osocze	---	+++	+++	+++
Antygenemia	leukocyty	---	+++	+++	+++
Serologia	surowica	+++ (wykrycie IgG)	+	–	---

*BAL: popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe

--- w ogóle nieprzydatna, – nieprzydatna, + przydatna, ++ bardzo przydatna, +++ najbardziej przydatna

około 60–70% dla aktywnej, asymptomatycznej infekcji i prawie 100% dla infekcji CMV z objawami klinicznymi. Poważnym ograniczeniem jest jednak trudność wykonania i interpretacji otrzymanych wyników. Test nie jest w pełni wystandaryzowany.

Kwasy nukleinowe wirusa

Wykrycie kwasów nukleinowych za pomocą techniki PCR możemy wykonać metodą ilościową lub jakościową. Test jakościowy PCR jest obecnie najczulszą i najczęściej używaną metodą. Wykrycie DNA CMV potwierdza obecność wirusa. W diagnostyce aktywnej infekcji CMV powinno się unikać zbyt wysokiej czułości testu PCR z powodu możliwości wykrycia latentnego wirusa we krwi. Wówczas dodatnia wartość predykcyjna jest bardzo ograniczona, np. 25–40% dla pacjentów po przeszczepach wątroby. Z kolei ujemna wartość predykcyjna jest bardzo wysoka i wynosi 100% dla pacjentów potransplantacyjnych.

Specyficzne przeciwciała

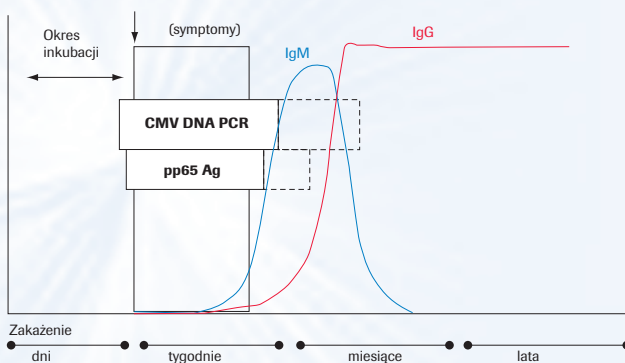
Identyfikacja przeciwciał anty CMV klasy IgG stanowi dowód na wcześniejszy kontakt z wirusem. Natomiast obecność przeciwciał IgM zazwyczaj jest markerem aktywnego zakażenia CMV. Jednakże, obserwuje się w niektórych przypadkach brak przeciwciał IgM. U innych chorych natomiast, mogą się one utrzymywać na podwyższonym poziomie przez długi okres, a ich obecność nie ma wartości diagnostycznej dla potwierdzenia aktywnej infekcji. Poziom przeciwciał IgM może podwyższać się również podczas reaktywacji CMV, więc ich obecność nie jest pewnym znacznikiem pierwszej infekcji.

Dobór testu w zależności od grupy diagnozowanych pacjentów

Kobiety ciężarne/norodki

Dla kobiet, identyfikacja przeciwciał CMV na początku ciąży może mieć duże znaczenie. Pożądane jest, aby w przypadku objawów klinicznych i/lub stwierdzenia aktywnego zakażenia podczas ciąży określić, czy jest to pierwsza infekcja, czy reaktywacja/reinfekcja. Wykluczenie infekcji pierwotnej pozwala uniknąć inwazyjnych metod diagnostycznych.

Przeniesienie zakażenia z matki na płód może nastąpić w każdym okresie ciąży. Około 1% noworodków jest zakażanych wewnątrzmacicznie, z czego u 10% występują objawy kliniczne cytomegalii. Wrodzone zakażenie noworodka na skutek infekcji matczynej następuje w 40% przypadków przy pierwszej infekcji matki i w 1% przy nawracającej infekcji. Zakażenie noworodków może być potwierdzone testem PCR lub hodowlą wirusa z moczu (**Rys. 1**).



Rys. 1. Detekcja wirusa i przeciwciał pierwszego zakażenia CMV

Pacjenci po transplantacji

W transplantologii należy zdiagnozować dawcę i biorcę do czego wystarczające jest oznaczenie przeciwciał klasy IgG. Stwierdzenie, że zarówno dawca, jak i biorca są CMV-seronegatywni (D-/B-) minimalizuje ryzyko infekcji. Bardziej ryzykowne są przypadki kiedy dawca jest CMV-seropozytywny, a biorca seronegatywny (D+/B-), niż wówczas, gdy dawca i biorca są seropozytywni (D+/B+). U chorych po przeszczepach należy dążyć do wykrycia ewentualnej infekcji możliwie jak najszybciej i w tym celu zaleca się wykonywanie oznaczeń w odstępach tygodniowych. Do zalecanych badań zalicza się PCR lub antygenemii. Szybkie wykrycie zakażenia umożliwia zastosowanie jak najwcześniejszego leczenia antywirusowego („leczenie zapobiegawcze – preemptive therapy”). Przyjmuje się, że dodatnie wyniki PCR/antygenemii w dwu kolejnych próbkach upoważniają do rozpoczęcia leczenia. Zbyt wysoka czułość testu na CMV powoduje, że dodatnia wartość predykcyjna wynosi tylko około 50%. Co oznacza, że około 50% pacjentów otrzymało niepotrzebnie leczenie. Jest to efekt niepożądany z powodu wysokiej toksyczności stosowanych leków. Metodą, która poprawia wartość predykcyjną jest test ilościowy PCR,

który jest jedyną metodą pozwalającą na dokładne śledzenie poszczególnych etapów zakażenia CMV. Monitorowanie leczenia przy pomocy ilościowego testu PCR dostarcza informacji o spadku ilości CMV DNA u pacjenta lub braku odpowiedzi na leczenie w przypadku oporności wirusa na lek.

Chorzy na AIDS

W tej grupie pacjentów wiremia powiązana jest z organem ujawnienia się zakażenia. Najczęściej atakowanym przez wirus CMV narządem, u osób z AIDS, jest siatkówka oka oraz przewód pokarmowy. Cytomegalowirusowe zakażenie objawia się stanem zapalnym tych organów, a liczba wykrywanych kopii DNA CMV jest w nich wyższa niż w surowicy lub osoczu. Reaktywacja CMV zazwyczaj następuje w przypadku spadku liczby limfocytów CD4+ poniżej 100/mm³. Wówczas należy wykonywać badanie PCR regularnie co 2–3 miesiące.

aktywacja CMV zazwyczaj następuje w przypadku spadku liczby limfocytów CD4+ poniżej 100/mm³. Wówczas należy wykonywać badanie PCR regularnie co 2–3 miesiące.

Dawcy krwi

Konwencjonalne testy serologiczne są wystarczające do wykrycia lub wykluczenia CMV. Jedyne problem, to przypadek aktywnej infekcji przed pojawieniem się odpowiedzi immunologicznej. Jednakże mała liczba stwierdzonych przypadków seronegatywnych biorców krwi sugeruje, że jest to zjawisko bardzo rzadkie.

Terapia

Pierwszym stosowanym lekiem w czynnym zakażeniu cytomegalowirusem jest gancyklowir (GCV) – niecykliczny analog deoksyguanozyny. Stosuje się go przez 7–21 dni w zależności od postaci klinicznej zakażenia, ciężkości przebiegu, efektu terapeutycznego, tolerancji na lek i działań niepożądanych. Innymi lekami stosowanymi w cytomegalii jest forskarnet i cidofovir, szczególnie przydatne w zakażeniach szczepami CMV opornymi na gancyklowir.