



ISSN 1644-8448
nakład: 1000 egz.

LabForum



cobas[®]
Life needs answers



System **cobas**® 6800

Szanowni Państwo,

Chciałbym poinformować, że Roche zainicjował program diagnozowania wirusa Zika w amerykańskich centrach krwiodawstwa. Projekt ten jest zaakceptowany przez FDA (Agencję ds. Żywności i Leków) w ramach protokołu badań klinicznych IND (*Investigational New Drug Application*).

Wytwarzany przez Roche, test **cobas**® Zika jest przeznaczony do użytku z systemami **cobas**® 6800/8800. Jest to jakościowy test przesiewowy *in vitro* do bezpośredniego wykrywania RNA wirusa Zika w próbkach osocza od pojedynczych dawców krwi.

Metoda oznaczania jest w pełni zautomatyzowana od etapu przygotowania próbki (ekstrakcja i oczyszczanie kwasu nukleinowego), poprzez amplifikację PCR i detekcję. Systemy **cobas**® 6800/8800 składają się z modułów podawania próbki, transferu, przetwarzania oraz modułu analitycznego. Zautomatyzowane zarządzanie danymi odbywa się przez specjalnie dedykowane oprogramowanie **cobas**® 6800/8800, które przypisuje wyniki badań dla wszystkich testów jako niereaktywny, reaktywny lub nieprawidłowy.

W pełni zautomatyzowane systemy wysokiej wydajności gwarantują służbom medycznym rozwiązania umożliwiające wykrycie wirusa i zapewnienie, że potencjalnie zakażone jednostki krwi nie będą udostępniane do transfuzji. Roche jako lider w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej angażuje się w dostarczanie profesjonalnych rozwiązań w sytuacjach kryzysowych dla służby zdrowia, dlatego będziemy kontynuować prace nad bezpieczeństwem krwiodawstwa na świecie. Więcej szczegółów znajdą Państwo na naszej stronie internetowej www.roche.com/media/store/releases/med-cor-2016-03-31.htm

W bieżącym numerze LF rozpoczynamy cykl artykułów z dziedziny diagnostyki wirusologicznej. Powstały one na podstawie wykładów prezentowanych podczas zeszłorocznego seminarium „Postępy w badaniach przeglądowych dawców krwi”, organizowanego przez Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. pod nadzorem merytorycznym Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie.

Życzę miłej lektury,

Z poważaniem

Tomáš Petr
wraz z zespołem RDP

Spis treści:

Przydatność badań aktywności
płytek krwi w hematologii 3

Znaczenie fazy przedanalizy
w diagnostyce chorób zakaźnych 8

Wirus zapalenia wątroby typu E jako
wylaniający się czynnik chorobotwórczy
w krwiodawstwie i krwiolecznictwie 11

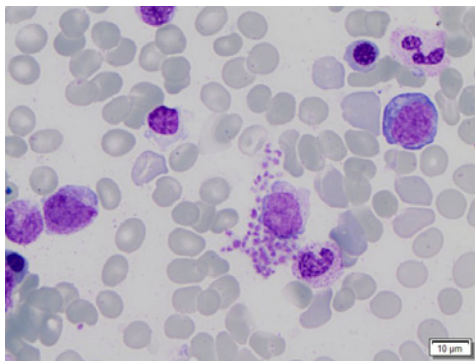
Kiła – nowa diagnostyka starej choroby 14

Przydatność badań aktywności płytek krwi w hematologii

Aleksandra Nowaczyńska, Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

WSTĘP

Płytki, których wielkość szacuje się na 2-5µm krwi są najmniejszymi, pozbawionymi jądra komórkowego elementami morfotycznymi krwi. Ich powstawanie z fragmentów megakariocytów szpiku kostnego regulowane jest przez cytokiny, głównie trombopoetynę. Czas przeżycia trombocytów szacuje się na 8 do 12 dni, a produkowana liczba wynosi około 40 tysięcy na dobę. Płytki krwi są usuwane z krążenia głównie w śledzionie i wątrobie przez układ fagocytny (siateczkowo-śródbłonkowy). Krwinki płytkowe biorą udział w szeregu reakcji związanych z procesami fizjologicznymi i patologicznymi: gojenia się ran, krzepnięciem krwi, w procesach zapalnych, w rozprzestrzenianiu się procesu nowotworowego i odpowiedzi układu immunologicznego.



Płytki krwi mają kształt dysku o bogatej strukturze wewnętrznej, złożonej z nieregularnej sieci kanalików i kilku rodzajów ziarnistości, magazynujących substancje biorące udział w procesach hemostazy pierwotnej i wtórnej. Do ziarnistości płytkowych należą:

- Ziarnistości gęste, zawierające: ADP (dwufosforan adenozyne), ATP (trójfosforan adenozyne), GTP (trójfosforan guanozyne), serotoninę, jony wapnia i magnezu;
- Ziarnistości alfa, zawierające: białka swoiste płytek (czynnik płytkowy-4, PF4 – ang. *platelet factor-4* i β -tromboglobulinę), białka adhezyjne (czynnik von Willebranda, fibronektynę, trombospondynę, witronektynę), białka układu hemostazy (fibrinogen, czynniki V i XI, białko C i S), TFPI (ang. *tissue factor pathway inhibitor*) – inhibitor zewnątrzpo pochodnego szlaku krzepnięcia, PAI-1 – inhibitor tkankowego aktywatora fibrynolizy i wysokocząsteczkowy kininogen – HMWK (ang. *high-molecular weight kininogen*), czynniki mitogenne (PDGF ang. *platelet-derived growth factor*, PDECGF ang. *platelet-derived endothelial cell growth factor*);
- Lizosomy i peroksysomy, uwalniające katalazę i kwaśne hydrolazy.

Płytki krwi w układzie hemostazy pełnią podwójną funkcję – biorą udział w procesie tworzenia pierwotnego (płytkowego) czopu hemostatycznego oraz poprzez wzmocnienie czopu hemostatycznego (dzięki procesom biochemicznym kaskady krzepnięcia następuje wytworzenie stabilnego skrzepu hemostatycznego). Hemostaza pierwotna, polegająca na wytworzeniu czopu płytkowego dotyczy podstawowych przejawów fizjologicznej aktywności płytek, czyli ich adhezji i agregacji. Wytworzony czop płytkowy jest zbyt słaby aby skutecznie powstrzymać wypływ krwi z uszkodzonych naczyń i za pośrednictwem substancji biologicznie czynnych, znajdujących się w ziarnistościach, oraz za pośrednictwem struktur powierzchni błony lipidowej, płytki krwi wpływają na działanie pozostałych elementów hemostazy. Ujawnia się tutaj regulacyjna funkcja trombocytów. Zmiana składu

1 Skupisko płytek krwi
w szpiku kostnym



Multiplate
· analizator funkcji płytek

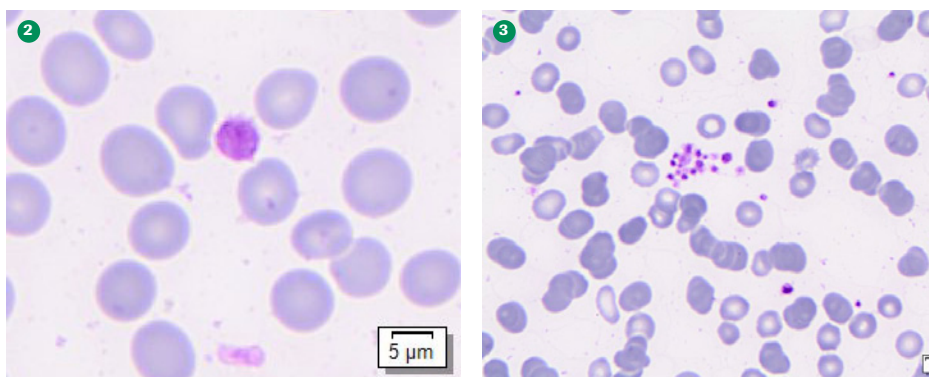
2 Krew obwodowa.

Aktywowana, duża płytka krwi. Na powierzchni, widoczne liczne wypustki i ziarnistości wewnątrzpłytkowe.

3 Krew obwodowa.

Skupisko aktywowanych płytek krwi.

błony komórkowej oraz udostępnienie powierzchni prokoagulacyjnej umożliwia tworzenie się na powierzchni fosfolipidowej kompleksów aktywacyjnych układu krzepnięcia, właściwe funkcjonowanie kaskady krzepnięcia i układu białka C.



ZASTOSOWANIE APARATU MULTIPLATE W DIAGNOSTYCE HEMATOLOGICZNEJ

Zaburzenia układu krzepnięcia u pacjentów mogą dotyczyć zarówno hemostazy płytkowej jak i osoczowej. Objawami są często powracające krwawienia oraz stany nadmiernego pobudzenia układu krzepnięcia prowadzące do zmian zakrzepowych. Przyczyny tych nieprawidłowości są różne. Zaburzenia hemostazy występują w licznych chorobach: w białaczkach ostrych i przewlekłych, zespołach mielodysplastycznych, zespołach mieloproliferacyjnych, zespołach limfoproliferacyjnych.

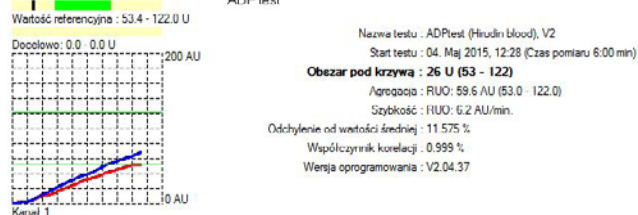
Zastosowanie aparatu Multiplate ma na celu ocenę funkcji płytek przy prawidłowej ich liczbie. Daje możliwość jednoczesnej oceny zdolności adhezyjnych i agregacyjnych płytek. Wykorzystanie różnych rodzajów aktywatorów pozwala na ocenę dysfunkcji trombocytów w kilku szlakach aktywacji.

W Katedrze i Klinice Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku UM w Lublinie zostały zapoczątkowane równolegle dwa rodzaje badań z udziałem dwóch grup pacjentów przy pomocy aparatu Multiplate. Zastosowano cztery rodzaje testów, w których aktywatorami płytek krwi były następujące substancje: ADPtest (adenozynodwufosforan), ASPItest (kwas arachidonowy), COLtest (kolagen) oraz TRAPtest (białko aktywujące receptor trombiny). Pierwsza grupa badanych osób składała się z chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (PBL). U tych pacjentów często występują objawy skazy krwotocznej pojawiające się jako wynik choroby lub też występujące i nasilające się w trakcie leczenia. Zwiększone jest więc u nich zapotrzebowanie na przetoczenia preparatów krwiopochodnych. Ryzyko chorób zakrzepowych w tej jednostce chorobowej jest niewielkie. Zaburzenia czynności płytek nie zostały jeszcze w PBL poznane, więc tym bardziej istotne staje się przeprowadzenie odpowiednich badań. Do grupy badanej zostało zakwalifikowanych 80 chorych na PBL, których objęto leczeniem ibrutynibem, lekiem mającym na celu zmniejszenie klonu patologicznych limfocytów B, obecnych w tej chorobie. Ibrutynib jest silnym, małocząsteczkowym inhibitorem kinazy tyrozynowej Brutona (BTK). Kluczowa rola BTK w przekazywaniu sygnałów przez receptory powierzchniowe limfocytów B skutkuje pobudzeniem szlaków niezbędnych do komunikacji chemotaksji i adhezji komórek B. Badania doświadczalne wykazały, że ibrutynib skutecznie hamuje ich złośliwą proliferację, przeżycie

in vivo, oraz migrację komórek i adhezję do substratu *in vitro*. Na podstawie wyników badań przeprowadzonych za pomocą dostępnych testów Multiplate, zidentyfikowano grupę chorych, u których istnieje zwiększone ryzyko wystąpienia powikłań krwotocznych. U tych chorych należy zastanowić się nad zredukowaniem dawki lub przygotowaniem się do ewentualnych transfuzji. Dla ostatecznych wniosków konieczne jest jednak przeprowadzenie badań z udziałem większej grupy pacjentów.

4 Porównanie wyników pacjenta w czasie leczenia ibrutynibem. Wykresy agregacji płytek w czterech testach obrazują upośledzenie funkcji płytek krwi pogłębiające się w czasie leczenia.

Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®
ADP test



Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®
ADP test



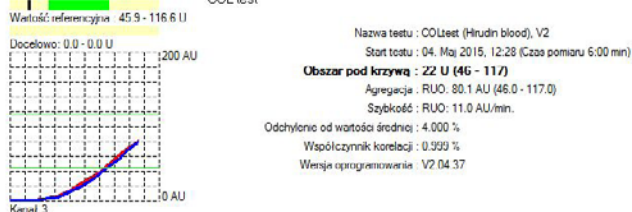
Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®
ASPI test



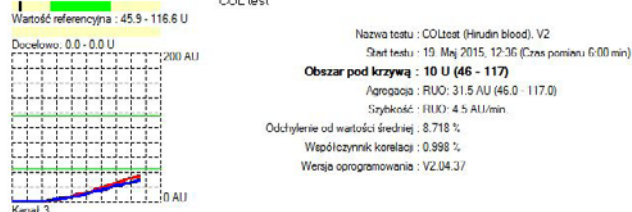
Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®
ASPI test



Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®
COL test



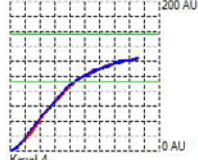
Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®
COL test



Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®

Wartość referencyjna : 94.1 - 156.3 U TRAP test

Docelowo: 0.0 - 0.0 U



Nazwa testu : TRAPtest (Hirudin blood), V2
Start testu : 04. Maj 2015, 12:28 (Czas pomiaru 6:00 min)

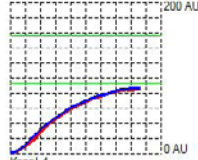
Obszar pod krzywą : 71 U (94 - 156)
Agregacja : RUO: 123.4 AU (94.0 - 156.0)
Szybkość : RUO: 16.6 AU/min.

Odchylenie od wartości średniej : 0.282 %
Współczynnik korelacji : 1.000 %
Wersja oprogramowania : V2.04.37

Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®

Wartość referencyjna : 94.1 - 156.3 U TRAP test

Docelowo: 0.0 - 0.0 U



Nazwa testu : TRAPtest (Hirudin blood), V2
Start testu : 19. Maj 2015, 12:37 (Czas pomiaru 6:00 min)

Obszar pod krzywą : 49 U (94 - 156)
Agregacja : RUO: 85.5 AU (94.0 - 156.0)
Szybkość : RUO: 12.3 AU/min.

Odchylenie od wartości średniej : 1.325 %
Współczynnik korelacji : 0.999 %
Wersja oprogramowania : V2.04.37

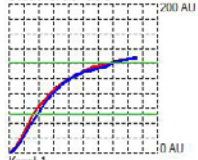
Druga grupa składała się z 20 chorych na szpiczaka mnogiego, obarczonych dużym ryzykiem zakrzepicy żyłnej i tętniczej spowodowanym chorobą, jak również jej leczeniem. W tej grupie głównym lekiem w schemacie leczenia był bortezomib, należący do grupy inhibitorów proteasomów. Proteasomy, są to kompleksy enzymów regulujące procesy apoptozy i migracji komórek. Bortezomib i inne leki z grupy inhibitorów proteasomów są wysoce aktywne w komórkach szpiczaka mnogiego. Przedkliniczne dane sugerują, iż ryzyko występowania incydentów zakrzepicy żyłnej bądź tętniczej jest znikome w trakcie leczenia tym lekiem. Dlatego też rozpoczęto badania, których celem była analiza agregacji płytek przy użyciu wybranych testów w aparacie Multiplate. U niektórych chorych z tej grupy po wykonaniu dostępnych testów Multiplate wyniki wskazują możliwość wystąpienia zwiększonego ryzyka zakrzepicy. U tych chorych należałoby rozważyć możliwość modyfikacji dawki i zabezpieczenie chorego przed wystąpieniem epizodu zakrzepowego.

5 Porównanie wyników pacjenta w czasie leczenia bortezomibem. Wykresy obrazują zmiany agregacji płytek krwi zachodzące w czasie leczenia.

Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®

Wartość referencyjna : 53.4 - 122.0 U ADP test

Docelowo: 0.0 - 0.0 U



Nazwa testu : ADPtest (Hirudin blood), V2
Start testu : 16. Cze. 2015, 14:10 (Czas pomiaru 6:00 min)

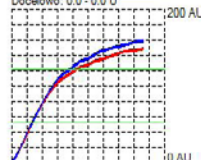
Obszar pod krzywą : 79 U (53 - 122)
Agregacja : RUO: 126.6 AU (53.0 - 122.0)
Szybkość : RUO: 20.6 AU/min.

Odchylenie od wartości średniej : 1.519 %
Współczynnik korelacji : 0.998 %
Wersja oprogramowania : V2.04.37

Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®

Wartość referencyjna : 53.4 - 122.0 U ADP test

Docelowo: 0.0 - 0.0 U



Nazwa testu : ADPtest (Hirudin blood), V2
Start testu : 23. Cze. 2015, 13:00 (Czas pomiaru 6:00 min)

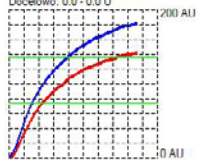
Obszar pod krzywą : 98 U (53 - 122)
Agregacja : RUO: 153.6 AU (53.0 - 122.0)
Szybkość : RUO: 24.8 AU/min.

Odchylenie od wartości średniej : 2.747 %
Współczynnik korelacji : 0.999 %
Wersja oprogramowania : V2.04.37

Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®

Wartość referencyjna : 74.5 - 136.1 U ASPI test

Docelowo: 0.0 - 0.0 U



Nazwa testu : ASPItest (Hirudin blood), V2
Start testu : 16. Cze. 2015, 14:10 (Czas pomiaru 6:00 min)

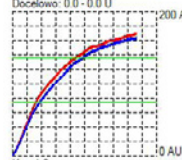
Obszar pod krzywą : 101 U (74 - 136)
Agregacja : RUO: 161.2 AU (75.0 - 136.0)
Szybkość : RUO: 26.5 AU/min.

Odchylenie od wartości średniej : 13.069 %
Współczynnik korelacji : 1.000 %
Wersja oprogramowania : V2.04.37

Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®

Wartość referencyjna : 74.5 - 136.1 U ASPI test

Docelowo: 0.0 - 0.0 U

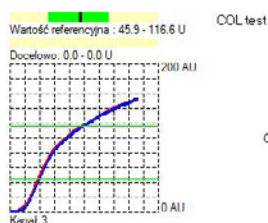


Nazwa testu : ASPItest (Hirudin blood), V2
Start testu : 23. Cze. 2015, 13:00 (Czas pomiaru 6:00 min)

Obszar pod krzywą : 105 U (74 - 136)
Agregacja : RUO: 165.8 AU (75.0 - 136.0)
Szybkość : RUO: 27.3 AU/min.

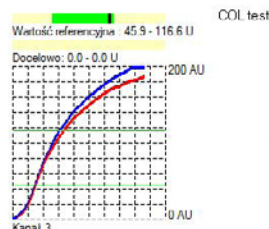
Odchylenie od wartości średniej : 2.721 %
Współczynnik korelacji : 0.999 %
Wersja oprogramowania : V2.04.37

Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®



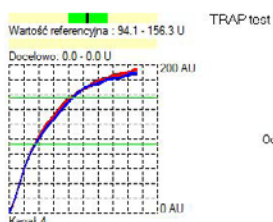
Nazwa testu : COLtest (Hirudin blood), V2
 Start testu : 16. Cze. 2015, 14:11 (Czas pomiaru 6:00 min)
Obszar pod krzywą : 84 U (46 - 117)
 Agregacja : RUO: 152.8 AU (46.0 - 117.0)
 Szybkość : RUO: 26.6 AU/min.
 Odchylenie od wartości średniej : 0.957 %
 Współczynnik korelacji : 1.000 %
 Wersja oprogramowania : V2.04.37

Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®



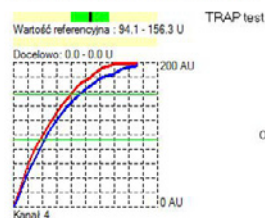
Nazwa testu : COLtest (Hirudin blood), V2
 Start testu : 23. Cze. 2015, 13:01 (Czas pomiaru 6:00 min)
Obszar pod krzywą : 112 U (46 - 117)
 Agregacja : RUO: 194.1 AU (46.0 - 117.0)
 Szybkość : RUO: 31.4 AU/min.
 Odchylenie od wartości średniej : 3.710 %
 Współczynnik korelacji : 1.000 %
 Wersja oprogramowania : V2.04.37

Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®



Nazwa testu : TRAPtest (Hirudin blood), V2
 Start testu : 16. Cze. 2015, 14:11 (Czas pomiaru 6:00 min)
Obszar pod krzywą : 125 U (94 - 156)
 Agregacja : RUO: 190.3 AU (94.0 - 156.0)
 Szybkość : RUO: 36.6 AU/min.
 Odchylenie od wartości średniej : 1.000 %
 Współczynnik korelacji : 1.000 %
 Wersja oprogramowania : V2.04.37

Analiza czynności płytek krwi w systemie Multiplate®



Nazwa testu : TRAPtest (Hirudin blood), V2
 Start testu : 23. Cze. 2015, 13:01 (Czas pomiaru 6:00 min)
Obszar pod krzywą : 126 U (94 - 156)
 Agregacja : RUO: 202.3 AU (94.0 - 156.0)
 Szybkość : RUO: 31.5 AU/min.
 Odchylenie od wartości średniej : 4.178 %
 Współczynnik korelacji : 1.000 %
 Wersja oprogramowania : V2.04.37

PODSUMOWANIE

Wykorzystanie aparatu Multiplate u pacjentów z chorobami krwi stworzyło nowe perspektywy oceny hemostazy płytkowej zarówno w diagnostyce chorób, jak i monitorowaniu leczenia. To jest początek badań, które należy rozszerzyć aby potwierdzić wstępnie wysunięte wnioski. Należy oczywiście zwiększyć badaną grupę chorych oraz czas obserwacji. Prosta obsługa aparatu oraz różnorodność zastosowanych testów dały możliwość wnikliwej analizy funkcji krwinek płytkowych w różnych modelach aktywacji. Wyniki pomogą w monitorowaniu terapii w sposób bezpieczny dla pacjenta.

*Piśmiennictwo dostępne
w redakcji*



Multiplate
· analizator funkcji płytek

Znaczenie fazy przedanalalitycznej w diagnostyce chorób zakaźnych

Aleksander Mazur, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Podstawowym zadaniem nowoczesnej diagnostyki serologicznej zakażeń jest szybkie wykrywanie infekcji. Z oczywistych powodów wykrycie zakażenia (i ostateczne postawienie rozpoznania) powinno nastąpić w możliwie najkrótszym czasie od momentu jego dokonania (wniknięcia drobnoustroju do organizmu). Trzeba sobie jednak uświadomić fakt, że znaczna część (jeśli nie większość!) badań wykonywana jest nie po to żeby zakażenie potwierdzić, lecz po to żeby je wykluczyć! Związane jest to z koniecznością zapewnienia bezpieczeństwa pacjentom podlegającym inwazyjnej diagnostyce, zabiegom chirurgicznym, lub otrzymującym materiał biologiczny w obszarze szeroko pojętej transfuzjologii i transplantologii.

PROBLEMY DIAGNOSTYCZNE ZWIĄZANE Z CZUŁOŚCIĄ I SWOISTOŚCIĄ TESTÓW

Oczywiste jest, że zarówno pierwsze, jak i drugie z postawionych zadań wymaga uzyskiwania wiarygodnych i jednoznacznych wyników oznaczeń. Obserwowana wraz z kolejnymi generacjami testów wzrastająca czułość analityczna daje możliwość wykrywania bardzo niewielkich stężeń poszukiwanych markerów. Powoduje jednak, że wśród wyników badań wskazujących na zakażenie pojawia się pewna ilość wyników fałszywie reaktywnych. Jest to cena za bardzo wysoką czułość testu, pozostającą zawsze w jakimś stopniu w niezgodności z jego swoistością. Problemy w obszarze swoistości testów i pojawianie się fałszywie reaktywnych wyników (np. na skutek występowania reakcji krzyżowych) wymusza stosowanie weryfikacyjnych testów, swoiście potwierdzających występowanie poszukiwanych markerów zakażenia. Zwiększają one jednak koszty całej diagnostyki oraz wydłużają niekiedy czas konieczny do uzyskania ostatecznego wyniku. Wskazane jest wobec tego organizowanie diagnostyki tak, aby w maksymalnym stopniu unikać wyników wątpliwych, fałszywie reaktywnych i wymagających dalszej weryfikacji. Postęp technologiczny ma znaczny wpływ na jakość uzyskiwanych wyników (np. kolejne generacje testów są bardziej odporne na wpływ czynników zewnętrznych od fazy przedanalalitycznej badania), jednak opracowanie dobrej jakości, skutecznego testu przesiewowego, wykrywającego zakażenia drobnoustrojami łatwo mutującymi i występującymi przez to w wielu odmianach, genotypach i subtypach (jak np. HCV, HBV, HIV) jest zadaniem bardzo trudnym. Obszar ten – zależny od charakterystyki samych drobnoustrojów jest trudny do kontrolowania. Są również inne czynniki na które nie mamy wpływu, takie jak występowanie u osób badanych zjawisk immunologicznych powodujących krzyżowe reakcje i fałszywie reaktywne wyniki oznaczeń. Jednak przy pomocy dostępnych nam narzędzi możemy w stosunkowo łatwy i tani sposób wpłynąć na ograniczenie ilości niepotrzebnie wykonywanych powtórnych oznaczeń (weryfikacja próbek wstępnie reaktywnych) oraz ilości zlecanych znacznie droższych i czasochłonnych testów potwierdzających. Z ekonomicznego i organizacyjnego punktu widzenia z pewnością warto się nad tym zagadnieniem głębiej zastanowić.

ZNACZENIE FAZY PRZEDANALITYCZNEJ

Jeżeli projektujemy zasady funkcjonowania pracowni oznaczającej serologiczne markery zakażeń, w której jednym z priorytetów jest szybkość uzyskiwania wyników i minimalizacja błędów mających miejsce w trakcie fazy przedanalalitycznej, kluczowym zagadnieniem powinien być właściwy wybór materiału do badania. W celu uproszczenia procedury pobierania krwi, dla uniknięcia ewentualnych pomyłek warto wprowadzić jeden uniwersalny

sposób jej zabezpieczania. W polskiej praktyce laboratoryjnej materiałem najczęściej wykorzystywanym do oznaczania serologicznych markerów zakażeń jest surowica krwi, uzyskiwana poprzez oddzielenie jej od skrzepu w trakcie wirowania. Powszechnie wiadomo, że uzyskanie dobrej surowicy do badań może niekiedy narażać na pewnych trudności. Proces pełnego wykrzepiania wynaczynionej krwi jest rozciągnięty w czasie i przyjmuje się, że aby móc uzyskać surowicę do badań należy odczekać z wirowaniem co najmniej 30 min. Jednak stosowanie leczenia antykoagulacyjnego przedłuża ten proces o czas trudny do określenia, bo jest on indywidualnie zmienny. Leczenie antykoagulacyjne stosuje się zarówno u wybranych pacjentów hospitalizowanych, jak i ambulatoryjnych. Zbyt wczesne oddzielenie surowicy takich pacjentów i następujące później dalsze wykrzepianie jest źródłem problemów takich jak zatykanie igły próbkującej skrzepliną, zanieczyszczanie drenów i komór analizatora „lepkim” białkowym filmem, czy uzyskiwanie fałszywie dodatnich wyników oznaczeń na skutek różnych interferencji, wynikających z obecności w badanym roztworze fragmentów włókna.

Niestety te potencjalne, „specjalne” właściwości krwi konkretnego pacjenta nie są w laboratorium znane, ponieważ tego typu danych dotyczących leczenia nie udostępnia się rutynowo wraz ze skierowaniem na badania. Jest to więc ważny czynnik fazy przedanalizycznej nad którym nie mamy w praktyce żadnej kontroli. Można go jednak wyeliminować już na wstępie poprzez zastąpienie surowicy osoczem, zabezpieczonym przy pobraniu odpowiednim antykoagulantem. Z punktu widzenia metody ECLIA, którą posługują się analizatory linii Elecsys i **cobas**[®], optymalnym antykoagulantem jest K3EDTA, który spełnia postawione na wstępie założenia oraz – co bardzo ważne – został dopuszczony przez producenta analizatora i zestawów odczynnikowych do wszystkich oznaczeń. Z oczywistych względów (również prawnych – w przypadku ewentualnych wątpliwości w odniesieniu do wartości wyników) nie powinno się wykonywać oznaczeń w materiale innym niż zezwala specyfikacja producenta. Wybór ten jest jednak korzystny również z innych względów. Niewielka objętość dodawanego EDTA sprawia, że osocze takie znakomicie nadaje się do oznaczeń ilościowych, ponieważ nie powoduje efektu rozcieńczenia analitu.

Uniwersalność osocza praktycznie eliminuje błędy związane z nieprawidłowym dobraniem antykoagulantu przy pobieraniu krwi, pozwala również na łączne wykonywanie wszystkich oznaczeń z jednej próbki. Dodatkową, lecz istotną korzyścią wynikającą z zastosowania EDTA jest możliwość wykonywania w tak zabezpieczonym materiale badań molekularnych. W przypadku wątpliwości, w celu weryfikacji i poszerzenia diagnostyki ten sam uniwersalny materiał może być więc użyty do dalszych badań. Porównując między sobą próbki o podobnej objętości nominalnej łatwo zauważyć, że odzysk osocza jest znacznie lepszy niż odzysk krwi z nierównej i sięgającej znacznie wyżej powierzchni skrzepliny w przypadku surowicy. Wyższy nad krwinkami słup cieczy (osocza!) pozwala na bezpieczne i „czyste” próbkowanie przez analizator z próbki pierwotnej. W przypadku próbek z krwią pobraną „na skrzep” skrzeplina często – pomimo wirowania – sięga tak wysoko, iż analizator próbując trafić igłą w skrzep (co powoduje jej zatkanie i stratę odczynników przy braku wyników), lub próbuje surowicę tuż nad jego powierzchnią wraz z fragmentami skrzepliny i uwięzionymi w niej krwinkami (które mogą powodować zafałszowanie wyniku). Oba zjawiska pociągają w konsekwencji konieczność wykonywania generujących dodatkowe koszty powtórnych badań weryfikacyjnych. Nie bez znaczenia jest również rodzaj próbki pierwotnej do której pobierana jest krew i z której później próbkowane jest przez analizator osocze. Szersza próbka ułatwia pobieranie materiału



cobas e 601

· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
średnich i dużych
laboratoriów



cobas[®] 6000

· zintegrowany system
biochemiczno-
immunochemiczny



cobas e 411

· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
małych i średnich
laboratoriów

Praca powstała na podstawie wykładu wygłoszonego podczas seminarium „Postępy w badaniach przeglądowych dawców krwi” (Warszawa, 5-6 października 2015 r.), organizowanego przez Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. pod nadzorem merytorycznym Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

przez końcówkę próbkującą bez ryzyka kontaktu z brzegiem pojemnika, lecz obniża słup cieczy. Węższa, przy tej samej objętości materiału podwyższa słup cieczy nad krwinkami, pozwalając na swobodniejsze zagłębianie się igły próbkującej bez ryzyka aspiracji krwinek. Kolejnym bardzo ważnym zagadnieniem mającym praktyczny wpływ na jakość uzyskiwanych wyników i częstość występowania fałszywych reaktywności jest odpowiednie wirowanie materiału do badań. Powszechnie wiadomo, że źle odwirowane osocze, czy w jeszcze większym stopniu surowica, mogą być przyczyną nieprawidłowych wyników badań oraz kumulującego się w czasie zanieczyszczania analizatora. Zgodnie ze wskazaniami instrukcji i zaleceń wytwórców zestawów odczynnikowych po uzyskaniu dodatniego wyniku oznaczenia należy próbkę ponownie odwirować i ponownie oznaczyć, aby uniknąć skutków ewentualnego przypadkowego błędu. Po takiej weryfikacji można dla próbki materiału uzyskać wynik powtarzalnie reaktywny (po drugim oznaczeniu dodatnim) lub powtarzalnie niereaktywny (dopiero po trzecim oznaczeniu – pierwotne i dwa weryfikacyjne!). Ponieważ jednak powtarzanie badań każdorazowo generuje dodatkowe koszty, w zdrowo pojętym interesie wykonującego badania jest zapewnienie właściwych warunków wirowania już w fazie wstępnej badania pierwotnego! Doświadczenia własne wskazują że stosowane w trakcie wirowania ciążenie na poziomie ok. 3700-4000 g, w ciągu 8-10 minut pozwala na uzyskanie dobrej jakości osocza do badań. Zabieg ten, w połączeniu z zastosowaniem bardzo dobrej jakości wody zużywanej przez analizator, pozwala utrzymać czystość toru pomiarowego i sprzyja uzyskiwaniu prawidłowych wyników już przy pierwszym oznaczeniu.

WNIOSKI

Podsumowując należy stwierdzić, że stosowanie nawet prostych, lecz przemyślanych rozwiązań może w sposób praktycznie bezkosztowy wpływać na skrócenie czasu diagnostyki, zmniejszać ilość błędnych rozpoznań oraz pomaga redukować koszty funkcjonowania laboratorium.



Wirus zapalenia wątroby typu E jako wyłaniający się czynnik chorobotwórczy w krwiodawstwie i krwiolecznictwie

Ryszard Pogłód, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Wirusowe zapalenie wątroby typu E wywołuje bezotczkowy wirus HEV (hepatitis E virus) z rodzaju *Hepevirus*. Jest to wirus RNA występujący w 4 genotypach. Do zakażenia genotypami HEV-1 i HEV-2 dochodzi u ludzi najczęściej drogą pokarmową w wyniku picia zanieczyszczonej fekaliami wody na obszarach endemicznego występowania choroby (Chiny, Nepal, Indie, Afryka Północna). Na obszarach nieendemicznych wirus (genotypy HEV-3, HEV-4) zakaża również zwierzęta. Do ustroju ludzkiego przedostaje się drogą pokarmową w wyniku spożycia zakażonego mięsa. HEV może być też przeniesiony parenteralnie na drodze przetoczenia zakażonych składników krwi lub przeszczepienia narządów, a także z matki na dziecko. Zachorowania występują zarówno w postaci epidemicznej, jak i indywidualnej.^{1,2,3,4,5} Według szacunków WHO zakażenie HEV co roku dotyka ok. 20 mln osób na świecie. Ocenia się, że u ok. 3,4 mln osób zakażonych infekcja przebiega jako objawowe ostre wzw, a u 56-70 tys. zakażonych choroba kończy się zgonem [1,3,4]. W większości przypadków zakażenia u osób z prawidłowo funkcjonującym układem odpornościowym są bezobjawowe.^{1,2,3} Stosunek zakażeń objawowych do bezobjawowych w krajach rozwijających się waha się od 1:2 do 1:13.³

DIAGNOSTYKA I PRZEBIEG KLINICZNY ZAKAŻENIA HEV

Pod względem klinicznym wzw typu E wykazuje wiele podobieństw z wzw typu A. Należy do nich dwufazowy przebieg i samoograniczenie infekcji. Odsetek śmiertelności sięga 4 %, ale istnieją grupy szczególnego ryzyka, gdzie jest on znacząco większy. Należą do nich kobiety w ciąży, u których zakażenie, głównie HEV-1, może mieć piorunujący przebieg (śmiertelność do 20 %) oraz pacjenci z istniejącą wcześniej chorobą wątroby bądź biorcy przeszczepu wątroby.^{1,2,3,4,5}

Rozpoznanie wzw typu E oparte jest na kryteriach klinicznych i laboratoryjnych. Według zaleceń Instytutu Kocha konieczne jest stwierdzenie obecności co najmniej jednego z następujących objawów: gorączka, żółtaczka, znaczny wzrost aktywności transaminaz i ból brzucha. Zakażenie potwierdza się na drodze wykrycia materiału genetycznego wirusa (NAT) w kale, surowicy i osoczu lub pośrednio przez wykrycie przeciwciał IgM lub znaczącego wzrostu miana IgG w dwóch kolejnych próbkach surowicy [2]. Decydujące znaczenie diagnostyczne w przypadku HEV mają badania NAT, gdyż czułość i swoistość testów serologicznych nie są optymalne i są one często zawodne.^{1,2,3}

Okres inkubacji wynosi 15-60 dni. Przebieg choroby jest dwufazowy i obejmuje okres zwiastunowy i żółtaczkowy.^{2,3} Pierwszy trwa krótko i charakteryzuje się m.in. bólami mięśni i stawów, złym samopoczuciem, niewysoką gorączką, nudnościami, wymiotami i bólami brzucha. Okres żółtaczkowy trwa od kilku dni do kilku tygodni. Zakażeniu mogą towarzyszyć zapalenia stawów, trzustki, nerek oraz różne zaburzenia neurologiczne. Stężenie bilirubiny wzrasta zwykle do 5-20 mg/dl, a aktywność aminotransferaz do 10-20 krotności wartości prawidłowych, ale po 1-2 miesiącach dochodzi do normalizacji wartości ALT i AST. Czasami występuje niedokrwistość aplastyczna, małopłytkowość i leukopenia.^{1,2,3} Zakażenie HEV może również wywołać ostrą niewydolność wątroby.⁶

U osób zakażonych HEV-1 i HEV-2 z prawidłowo funkcjonującym układem odpornościowym nie obserwowano przewlekłego wzw. Przewlekłe zakażenie, najczęściej genotypem HEV-3, niekiedy wikłane włóknieniem i marskością wątroby, stwierdzano u osób ze zmniejszoną odpornością tj. biorców przeszczepów narządowych i komórek krwiotwórczych w przebiegu leczenia immunosupresyjnego, osób zakażonych HIV oraz otrzymujących chemioterapię pacjentów z chorobami nowotworowymi układu krwiotwórczego.^{1,2,5}

Już po ekspozycji, a jeszcze przed wystąpieniem objawów klinicznych, we krwi i próbkach

Streszczenie

Wirusowe zapalenie wątroby (wzw) typu E należy do nowo pojawiających się zakażeń. Najczęstszą drogą transmisji wirusa jest droga pokarmowa, ale może on być także przenoszony z przetaczanymi składnikami krwi. W pracy przedstawiono podstawowe dane epidemiologiczne i kliniczne dotyczące zakażenia HEV ze szczególnym uwzględnieniem znaczenia zakażenia dla krwiolecznictwa.

Słowa kluczowe: wirusowe zapalenie wątroby typu E, czynniki zakaźne przenoszone z krwią



cobas e 411
· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
małych i średnich
laboratoriów

kału zakażonych osób można wykryć wirusowe RNA. Nie jest faktem zaskakującym, że u osób z upośledzoną odpornością serokonwersja może być opóźniona, co może mieć niekorzystne implikacje diagnostyczne.² Wiremia u osób zakażonych HEV trwa zwykle krótko, z krótkim okresem inkubacji, po którym następuje okres objawowy. Bezobjawowa wiremia u dawców krwi jest w większości przypadków równoznaczna z przewlekłym subklinicznym zakażeniem, co stwarza możliwość przeniesienia HEV poprzez transfuzję składników krwi. Przeciwciała anty-HEV wykazują ograniczone działanie ochronne przeciw reinfekcji HEV.^{2,5}

LECZENIE

Leczenie ostrego wzw typu E u pacjentów z prawidłową odpornością jest wyłącznie objawowe. Prawie wszyscy chorzy są w stanie samodzielnie usunąć wirusa. W ciężkim ostrym zakażeniu poprawę osiągnąć po leczeniu m.in. rybawiryną.^{1,2,5} W leczeniu przewlekłego zakażenia, np. u biorców przeszczepów z przewlekłym zakażeniem HEV należy dążyć do usunięcia wirusa. Można to osiągnąć na drodze zmniejszenia intensywności leczenia immunosupresyjnego albo wdrożenia leczenia przeciwwirusowego w przypadku, gdy immunosupresja nie może być zmniejszona i u chorych, którzy nie usunęli wirusa po jej zmniejszeniu.^{2,5}

HEV JAKO CZYNNIK ZAKAŹNY PRZENOSZONY Z KRWIĄ.

Bezobjawowy przebieg zakażenia HEV u krwiodawców oraz zwykle ciężki jego przebieg u biorców krwi z grup wzmoczonego ryzyka uzasadniają postrzeganie HEV, jako czynnika ryzyka bezpieczeństwa transfuzji. Jedną z pierwszych analiz występowania przeciwciał anty-HEV u krwiodawców z 11 krajów świata z różnych lat okresu 1993–2010 wskazuje na znaczne, tj. wahające się od 0,2 % (Grecja) do 32,6 % (Chiny), zróżnicowanie seroprevalencji.³ Szczególnie wysoka jest seroprevalencja na obszarach wiejskich Egiptu (80 %).¹ Zaskakująco wysokie okazały się odsetki serododatnich dawców w krajach rozwiniętych tj. w USA (18,3 %), Danii (20,6 %), a zwłaszcza Holandii (27 %).^{1,3,7} U 3,5 % holenderskich dawców oddających krew w okresie 2011–2012 wykryto IgM anty-HEV, a w trakcie badania osocza z 45 415 donacji (w pulach) wykryto HEV RNA u 17 krwiodawców. Skalę zakażeń wśród dawców krwi w Holandii na podstawie przytoczonych wyników badań **najbardziejzie uzmysławia stwierdzenie, że w kraju tym średnio raz dziennie pobiera się donację zakażoną HEV.**⁷ Prawie u wszystkich tych dawców stwierdzono genotyp HEV-3, tożsamy z genotypem zakażającym świnię, co wskazuje na odzwierzcę pochodzenie zakażenia, najprawdopodobniej w wyniku spożycia niedogotowanej wieprzowiny.^{1,2,3,7} Z kolei w Niemczech seroprevalencja w ogólnej populacji wynosiła 17 %, wśród krwiodawców w 2011 r. – 6,8 %, natomiast HEV RNA wykryto w 0,08 % donacji.^{2,8} Wirus HEV był także wykrywany w pulach osocza przeznaczonego do frakcjonowania w Europie, Ameryce Północnej i Azji, natomiast nie wykryto jego obecności w badanych 51 075 donacjach z USA.^{2,9,10} Wykazano, że częstość występowania RNA HEV wyniosła 1: 7198 donacji wśród szwedzkich i 1: 4525 wśród niemieckich dawców osocza. Obecność RNA HEV stwierdza się w ok. 10 % dużych pul osocza.^{9,10} W pulach osocza z Europy i Ameryki Północnej wykrywa się genotyp 3, a w pulach pochodzących z Azji – genotyp 4.¹⁰ Pierwszy opisany przypadek przeniesienia zakażenia HEV drogą transfuzji krwi miał miejsce na Hokkaido w Japonii w 2004 r. Wirusa wykryto u chorego z ostrym zapaleniem wątroby po przetoczeniach krwi od 23 dawców podczas operacji na otwartym sercu.³ Jak wynika z jednej z pierwszych analiz przeprowadzonych w różnych krajach większość zgłoszonych przypadków stanowili chorzy, którym przetaczano liczne składniki krwi w przebiegu chorób nowotworowych układu krwiotwórczego i chłonnego, otrzymujący chemioterapię z powodu nowotworów litych

lub poddawani hemodializom.³ Zdecydowana większość dawców pozostawała bezobjawowa. W Anglii pierwsze przeniesienie HEV po podaniu osocza zostało opisane w 2006 r.¹¹ W szerszej, przeprowadzonej w tym kraju analizie przypadków przeniesienia zakażenia wraz ze składnikami krwi otrzymanymi od 79 zakażonych dawców seronegatywnych w czasie donacji stwierdzono, że 43 chorym przetoczono 62 składniki krwi przed identyfikacją zakażonej donacji. Zakażonych zostało 18 (42 %) z nich.¹² Chociaż u wszystkich biorców doszło do wzrostu aktywności aminotransferaz, to chorobowość była niewielka, gdyż tylko u jednej osoby wystąpiło łagodne potransfuzjne wzw. W 2007 r. we Francji opisano przeniesienie HEV u dziecka przez transfuzję KKCz i KKP¹³, a w 2013 r. w Niemczech został udokumentowany przypadek przeniesienia HEV w wyniku przetoczenia KKP z aferezy.⁸ Warto podkreślić, że ładunek wirusa w tym preparacie był niewielki, ale otrzymał go pacjent leczony immunosupresyjnie.⁸ HEV może być przeniesiony z każdym składnikiem krwi. Najczęściej z KKCz, ale także z KKP zlewany i otrzymanym z aferezy, koncentratem granulocytarnym, FFP i krioprecypitatem.^{2,3,12,14} Nie obserwowano przeniesienia HEV z produktami krwiopochodnymi, ale wyrażane są niekiedy przypuszczenia, że stężenie wirusa w tych produktach może być poniżej progu jego wykrywalności.¹⁰ Przeniesieniu zakażenia HEV sprzyja niski poziom przeciwciał anty-HEV i większe stężenie wirusa w donacjach.^{2,8,10,12}

PROFILAKTYKA ZAKAŻEŃ HEV

Ogólna profilaktyka zakażeń HEV oparta jest na zasadach postępowania z chorobami zakaźnymi przenoszonymi drogą pokarmową tj. picie niezanieczyszczonej wody, zapewnieniu dobrych warunków sanitarnych i właściwej higieny osobistej.^{1,2,4} W 2011 r. w Chinach dopuszczono do stosowania rekombinowaną szczepionkę przeciwko HEV. Szczepionka okazała się skuteczna i dobrze tolerowana, nie jest jednak jeszcze zalecana do rutynowego podawania, zwłaszcza na obszarach, gdzie dominują inne niż w Chinach genotypy HEV.^{2,4,15} Profilaktyka przeniesienia zakażenia z krwią jest trudna. Z uwagi na bezobjawowy w większości przypadków przebieg zakażenia nie ma klinicznych podstaw do dyskwalifikacji zakażonych dawców. W przypadku dawców powracających z obszarów tropikalnych, przeniesieniu zakażenia HEV z pobraną krwią może zapobiec automatyczna dyskwalifikacja tych dawców z powodu obecnej na tych terenach malarii.² Inaktywacja czynników zakaźnych w składnikach krwi w przypadku HEV jest zawodna z uwagi na brak otoczki wirusa. Nieskuteczne okazało się poddawanie osocza procedurze *solvent-detergent*, również inaktywacja przy użyciu amotosalenu nie zapobiegła przeniesieniu HEV z przetoczonym KKP.^{2,16} Ponadto wykazano, że nawet niewielki ładunek wirusa może spowodować zakażenie u pacjenta poddanego immunosupresji.⁸

Wyrażana jest opinia, że dane epidemiologiczne odnoszące się do zakażeń HEV mogą być niedoszacowane.^{3,4} Istotną trudnością w ocenie znaczenia zakażeń HEV jest niewielka dostępność metod diagnostycznych. Jednocześnie wzrasta świadomość zagrożenia jakie zakażenie HEV może stanowić dla znacznej populacji biorców krwi z zaburzeniami układu odpornościowego, którym w krajach rozwiniętych przetacza się 30-40 % składników krwi.⁸ Część autorów przedstawionych tu publikacji rozważa możliwość wprowadzenia badań NAT u krwiodawców, zwłaszcza w krajach o dużym rozpowszechnieniu nosicielstwa^{8,12,14,16}, jednak jednolite podejście w tej kwestii jest jeszcze dalekie od wypracowania.



cobas e 601

· system immunochemiczny przeznaczony dla średnich i dużych laboratoriów



cobas® 6000

· zintegrowany system biochemiczno-immunochemiczny

Piśmiennictwo dostępne w redakcji

Praca powstała na podstawie wykładu wygłoszonego podczas seminarium „Postępy w badaniach przeglądowych dawców krwi” (Warszawa, 5-6 października 2015 r.), organizowanego przez Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. pod nadzorem merytorycznym Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Kiła – nowa diagnostyka starej choroby

Ewa Sulkowska, Zakład Wirusologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Kiła (łac. *Syphilis*) to choroba zakaźna, przenoszona najczęściej podczas kontaktów seksualnych, wywołwana przez bakterię *Treponema pallidum* (TP) należącą do rodziny *Spirochaetaceae*. Jedynym żywicielem tej bakterii jest człowiek. Okres wylęgania choroby wynosi 9-90 dni. Kiłę cechuje wieloletni przebieg z następującymi po sobie okresami objawowymi i bezobjawowymi, może przebiegać w sposób utajony, ulegać samowyleczeniu lub wywoływać poważne zmiany narządowe. Zakaźność *Treponema pallidum* jest ściśle związana z okresem choroby, największa jest w dwóch pierwszych latach. Związane jest to z obecnością u chorych zmian skórnych, którym towarzyszy wydzielina ze znaczną zawartością bakterii. Chorobę dzielimy na nabytą i wrodzoną.¹ Krwiodawca znajdujący się w każdym ze stadiów choroby może przenieść zakażenie na biorcę.

DIAGNOSTYKA

Potwierdzenie choroby oparte jest na obrazie klinicznym, wywiadzie epidemiologicznym oraz wynikach badań laboratoryjnych.²

Diagnostyka bezpośrednia polega na identyfikacji żywych drobnoustrojów na podstawie ich morfologii. *T. pallidum* to spiralne bakterie Gram-ujemne o średnicy 0,1-0,4 µm i długości 5-20 µm, dobrze widoczne w ciemnym polu mikroskopu świetlnego. Czulość tej metody wynosi 70-80 %.³

Testem referencyjnym zapewniającym najwyższą czulość jest próba biologiczna – test zakaźności królika (ang. *rabbit infectivity test* – RIT). Jest to dojadrowe zakażenie królików – jedyny skuteczny sposób namnażania krętka bladego.²

Hodowla krętka bladego jest bardzo trudna, są one wrażliwe na wysychanie i inne czynniki środowiska. Można utrzymać je przy życiu na podłożu zwanym jako *system hodowlany Fieldsteela*. Podwojenie liczby bakterii następuje po 30-50 godzinach, po tym czasie tempo wzrostu spada i należy *T. pallidum* przenieść na kolejne podłoże.³

W ostatnich latach trwają badania nad metodami biologii molekularnej, polegającymi na amplifikacji materiału genetycznego krętka bladego. Na początku lat 90 XX w. opracowano pierwsze testy wykorzystujące polimerazową reakcję łańcuchową (PCR), w których amplifikowano fragmenty genów kodujących białka błonowe krętka bladego.^{4,5} Czulość metody była bardzo wysoka i wynosiła od 1-10 krętków w badanej próbce. Obecnie stosowane testy biologii molekularnej wykorzystujące metodę PCR amplifikują fragment genu kodującego DNA I (poIA). Sekwencja nukleotydowa tego genu charakteryzuje się największą konserwatywnością. Tego typu testy mają bardzo wysoką czulość i swoistość porównywalną z próbą biologiczną. Znalazły one zastosowanie w badaniach diagnostycznych krwi, płynu mózgowo-rdzeniowego i owodniowego.⁶

Rutynowa diagnostyka wciąż najczęściej oparta jest jednak na metodach pośrednich, wykrywających przeciwciała skierowane przeciwko antygenom krętka bladego.

Wyróżniamy dwie grupy testów serologicznych:

– **klasyczne** – antygenem stosowanym w tych odczynach do wykrycia przeciwciał są antygeny lipidowe. Do testów klasycznych zalicza się tzw. testy kłaczkujące : test Wassermana, VDRL-Veneral Disease Research Laboratory, USR – *Unheated Serum Reagin*. Stosuje się w nich antygen zastępczy – kardiolipinę.⁷ Wykrywają przeciwciała przeciwlipidowe klasy IgG i IgM, wytwarzane również w przebiegu zakażeń innymi

krętkami (np. brucelozie, boreliozie) oraz chorobach o podłożu autoimmunologicznym (choroby reumatyczne, kolagenozy).^{2,5} Czułość różnych testów niekrętkowych jest podobna, aczkolwiek ulega zmianie w poszczególnych okresach choroby. Uważa się, że dla kiły I okresu wynosi 80 %, dla kiły II okresu i utajonej wczesnej – 100 %, dla kiły utajonej i objawowej późnej – 71 % a dla kiły utajonej późnej – 40 %.^{7,8}

– **krętkowe** – w których do wykrywania swoistych przeciwciał anti-TP wykorzystuje się antygeny krętków kiły. Do tego typu testów zalicza się np. testy: TPI – ang. *T. pallidum immobilization test*, FTA – ang. *Fluorescent Treponemal Antibody*, FTA-ABS – ang. *Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Test*, TPHA – ang. *Treponema Pallidum Haemagglutination Assay*, EIA – ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*, testy immunochemiczne WB – ang. *Western blot*.⁷ Testy krętkowe charakteryzują się większą swoistością i czułością w porównaniu z testami klasycznymi. Wyniki dodatnie, u większości zakażonych osób, utrzymują się przez 2-3 tyg. od chwili zakażenia w przypadku kiły pierwszorzędowej (kiła pierwszorzędowa może trwać od 6 do 9 tygodni od momentu zakażenia) oraz u 100 % chorych w kile drugorzędowej (kiła drugorzędowa może trwać od 9 do 15 tygodni od momentu zakażenia).⁷

Na podstawie oceny czułości i swoistości testów serologicznych wykrywających przeciwciała przeciwko *T. pallidum* Międzynarodowa Organizacja ds. Chorób Przenoszonych Drogą Płciową (*International Union Against Sexually Transmitted Infections – IUSTI*) zaleca stosowanie w badaniach przeglądowych testów swoistych – krętkowych np. testów immunoenzymatycznych (EIA) czy immunochemicznych.⁹

Zgodnie z rekomendacjami IUSTI badania potwierdzające zakażenia *T. pallidum* należy wykonywać innym testem niż badanie przeglądowe. Zaleca się, aby do potwierdzenia wyników powtarzalnie reaktywnych wykorzystywać dwa rodzaje testów. Jeśli na przykład powtarzalnie reaktywny wynik testu przeglądowego uzyskano w teście EIA, badania weryfikacyjne powinny być wykonane dwoma spośród testów typu TPHA, FTA, FTA-ABS, WB.

W Polsce od 2012 r. do badań przeglądowych w kierunku *T. pallidum* u krwiodawców wykorzystywane są testy swoiste CMIA, EIA, TPHA.¹⁰ Stała dyskwalifikacja dawcy następuje po uzyskaniu wyniku dodatniego w przynajmniej 2 testach potwierdzenia. W przypadku uzyskania innych wyników nakładana jest dyskwalifikacja czasowa. Dawca z dyskwalifikacją czasową może być przywrócony do oddawania krwi po uzyskaniu wyników ujemnych w teście przeglądowym oraz testach potwierdzenia. Po potwierdzeniu zakażenia w kierunku *T. pallidum* dawcę należy na stałe skreślić z rejestru dawców krwi, skierować do poradni wenerologicznej, zgłosić na odpowiednim formularzu do SANEPIDu. Jeżeli w testach potwierdzenia uzyskamy rozbieżne wyniki (jeden dodatni, drugi ujemny/nieokreślony) może to świadczyć o wczesnym etapie zakażenia lub nieswoistych reakcjach. Należy nałożyć dyskwalifikację czasową na okres 3 miesiące (długość tego okresu jest ściśle związana z czasem wylegania choroby sięgającym nawet 90 dni), następnie wykonać ponownie badania przeglądowe i weryfikacyjne. W kolejnych badaniach kontrolnych oczekujemy ustąpienia wyników nieswoistych lub potwierdzenia zakażenia (wyniki zgodnie reaktywne obu testów potwierdzenia). W trakcie procedury weryfikacji wyników reaktywnych badania przeglądowego należy zwrócić szczególną uwagę na wszelkie informacje o potencjalnie



cobas e 601

· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
średnich i dużych
laboratoriów



cobas® 6000

· zintegrowany system
biochemiczno-
immunochemiczny



cobas e 411

· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
małych i średnich
laboratoriów

*Piśmiennictwo dostępne
w redakcji*

*Praca powstała na podstawie
wykładu wygłoszonego podczas
seminarium „Postępy
w badaniach przeglądowych
dawców krwi” (Warszawa,
5-6 października 2015 r.),
organizowanego przez
Roche Diagnostics Polska
Sp. z o.o. pod nadzorem
merytorycznym Instytutu
Hematologii i Transfuzjologii
w Warszawie*

ryzykownych zachowaniach/sytuacjach. Niekiedy konieczne jest skierowanie krwiodawcy do do poradni skórno-wenerologicznej na dalsze badania, już po uzyskaniu jednego wyniku dodatniego w teście potwierdzenia.

Diagnostyka zakażeń w kierunku *T. pallidum* jest istotna ze względu na zwiększoną liczbę zachorowań. Współczynnik zapadalności (liczba przypadków zachorowań na 100 000 mieszkańców) na kiłę w Polsce w ostatnich latach wynosi: 2010 r. – 2,14¹¹, 2011 r. – 2,2¹², 2012 r. – 2,6¹³, 2013 r. – 3,5¹⁴, 2014 r. – 3,2. Dane te towarzyszą wyraźnie zmniejszającej się liczbie badań w kierunku diagnostyki *T. pallidum* w pionie wenerologicznym. Przed reformą służby zdrowia w Polsce wykonywanych było około 8 milionów badań w kierunku TP, natomiast w 2011 r. było ich poniżej 100 tysięcy.¹² Również sytuacja epidemiologiczna w krajach sąsiadujących z Polską może budzić niepokój, ponieważ współczynnik zapadalności jest wyższy, często wielokrotnie. W Czechach wynosi 7,7; w Słowacji 4,2; na Węgrzech 5,5; na Łotwie 10,3; na Litwie 9,7; na Ukrainie 27,5; w Rosji 59,3.¹⁵

