

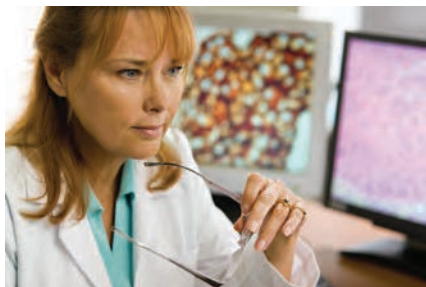


ISSN 1644-8448
nakład: 1000 egz.

LabForum



cobas[®]
Life needs answers



Diagnostyka chorób związanych z HTLV-ATLL, HAM / TSP, przewlekłego zapalenia skóry, zapalenia błony naczyniowej oka i oskrzeli.

Szanowni Państwo,

Pragnę poinformować o wprowadzeniu na rynek nowego testu immunodiagnostycznego do oznaczania przeciwciał HTLV.

Test Elecsys® HTLV-I/II stosowany jest w celu stwierdzenia nosicielstwa wirusów HTLV-1 i HTLV-2 oraz w podejrzeniu chorób związanych z obecnością wirusa HTLV-1. Ludzkie wirusy T-limfotropowe, HTLV (ang. *human T-lymphotropic virus*) lub wirusy ludzkiej białaczki/chłoniaka T (ang. *human T-cell leukemia/lymphoma virus*) należą do retrowirusów, nazwanych ze względu na właściwości onkogenne onkowirusami. Wirusy HTLV-1 i HTLV-2 są trudno rozróżnialne w testach serologicznych.

Dzięki doskonałej czułości test Elecsys® HTLV-I/II zwiększa prawdopodobieństwo wykrycia wczesnego lub chronicznego zakażenia wirusem HTLV, zmniejszając ryzyko dalszego przenoszenia. Wysoka swoistość testu ułatwia jasną i spójną interpretację wyników na wszystkich etapach choroby minimalizując potrzebę ponownych oznaczeń podnosząc w ten sposób wydajność laboratorium i zapewniając bezpieczeństwo pacjentom. Co więcej, procedura testu pozwala na uzyskanie wyniku w ciągu 18 minut, zapewniając bezpieczne i w krótkim czasie dostarczanie produktów krwiopochodnych oraz kwalifikację dawców przeszczepów.

Infekcja HTLV-1 jest bardziej istotna klinicznie i wiąże się bezpośrednio z chorobami zagrażającymi życiu, tj. białaczką T-komórkową dorosłych (*adult T-cell leukemia* – ATL), neurologicznymi chorobami demielinizacyjnymi, w tym mielopatią związaną z HTLV/ tropikalnym porażeniem spastycznym (HAM/TSP) i okulistycznymi (zapalenie błony naczyniowej oka). Zakażenie HTLV utrzymuje się przez całe życie i obecnie nie ma terapii eliminującej wirusy z organizmu. Szacuje się, że liczba nosicieli HTLV-1 i HTLV-2 na świecie wynosi ok. 20 milionów. Więcej informacji na temat Elecsys® HTLV-I/II znajdą Państwo w następujących numerach LabForum.

Chciałbym również zwrócić Państwa uwagę na załączoną płytę CD z kartami charakterystyki naszych wyrobów. Rozporządzenie CLP to nowe europejskie rozporządzenie w sprawie klasyfikacji (*Classification*), oznakowania (*Labelling*) i opakowań (*Packaging*) substancji i mieszanin chemicznych. Przepisy rozporządzenia wprowadzają w całej UE nowy system klasyfikacji i oznakowania chemikaliów oparty na globalnie zharmonizowanym systemie Organizacji Narodów Zjednoczonych (GHS ONZ). Dołączona płyta zawiera karty charakterystyk sporządzone zgodnie z tym Rozporządzeniem.

Życzę miłej lektury,

Z poważaniem

Tomáš Petr
wraz z zespołem RDP

Spis treści:

Diagnostyka laboratoryjna zakażenia parwowirusem B19 u kobiet w ciąży, cz. I	3
Dokładność pomiaru stężenia glukozy przy pomocy systemu ACCU-CHEK® Inform II:	10
45 doroczne spotkanie na temat onkologii kobiecej	17
Karty charakterystyki 2015	19

Diagnostyka laboratoryjna zakażenia parwowirusem B19 u kobiet w ciąży, cz. I

Piotr Grabarczyk¹, Aleksandra Kalińska¹, Bogumiła Litwińska², Marzena Dębska³,
Zbigniew Celewicz⁴, Dorota Nowakowska⁵, Elżbieta Puacz⁶

STRESZCZENIE

Parwovirus B19 (B19V) jest bardzo rozpowszechnionym wirusem, który u osób zdrowych zazwyczaj nie powoduje objawów istotnych klinicznie. Ryzyko wystąpienia powikłań dotyczy głównie kobiet w ciąży oraz osób z obniżoną odpornością. W tekście przedstawiono zalecenia dotyczące sposobu prowadzenia laboratoryjnej diagnostyki zakażenia B19V u kobiet w ciąży. Są one wynikiem wieloletniej współpracy naukowej diagnostów laboratoryjnych i lekarzy oraz analizy aktualnego piśmiennictwa. Rekomendacje uwzględniające obowiązujące przepisy prawa kierowane są głównie do diagnostów laboratoryjnych, aczkolwiek autorzy mają nadzieję, że będą one przydatne również lekarzom. Szczegółowo omówiono procedurę postępowania z materiałem biologicznym, opisano wymagania dotyczące stosowanej aparatury i testów diagnostycznych, sposobu zapewnienia jakości badań laboratoryjnych oraz formułowania, interpretowania i wydawania wyników w laboratorium diagnostycznym. Centralnym elementem rekomendacji jest algorytm postępowania diagnostycznego oraz zasady interpretacji wyników badań. Dotychczasowe obserwacje pokazują, że diagnostyka zakażenia parwowirusem B19 u kobiet w ciąży winna łączyć badania swoistych przeciwciał metodami immunoenzymatycznymi oraz badania ilościowe DNA B19V metodami molekularnymi. Potwierdzenie przeniesienia zakażenia od matki na płód oraz monitorowanie stężenia wirusa we krwi płodu należy wykonywać jedynie w przypadku dostępu do materiału pobranego w trakcie kordocentezy wykonanej celem leczenia niedokrwistości u płodu (transfuzja dopłodowa), stosując wyłącznie metodę ilościowego oznaczania DNA wirusa. W artykule omówiono trudności i ograniczenia w diagnostyce B19V, w tym przyczyny występowania wyników fałszywych oraz wskazano sposoby ich unikania. W przypadku stwierdzenia zakażenia B19V autorzy zalecają, aby na sprawozdaniu z badań laboratoryjnych umieszczać komentarz wskazujący na konieczność wykonania dalszej specjalistycznej diagnostyki i objęcia kobiety w ciąży odpowiednią opieką medyczną.

1. WPROWADZENIE

W pracy przedstawiono zalecenia dotyczące laboratoryjnej diagnostyki zakażenia parwowirusem B19 (B19V) u kobiet w ciąży. Zalecenia są owocem wieloletniej współpracy naukowej zespołu polskich diagnostów laboratoryjnych i lekarzy oraz analizy aktualnego piśmiennictwa. Uwzględniają one obowiązujące przepisy prawa. Analiza wyników badań epidemiologicznych zakażeń B19V, ryzyka powikłań w kontekście dostępu do właściwej diagnostyki oraz liczby zlecanych badań wskazuje, że zakażenie B19V jest problemem mało znanym i często nierozpoznawanym. Niniejsze opracowanie jest oparte na pierwotnym dokumencie Rekomendacji stworzonym z inicjatywy Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych (KIDL)⁴⁸ i kierowanym przede wszystkim do diagnostów laboratoryjnych. W obecnej wersji został on opatrzone obszernym wstępem przedstawiającym najważniejsze informacje dotyczące B19V, które są istotne dla zrozumienia znaczenia klinicznego wirusa oraz prowadzenia w sposób prawidłowy diagnostyki laboratoryjnej. W oparciu o aktualne piśmiennictwo przedstawiono również merytoryczne uzasadnienie zlecenia badań oraz więcej szczegółów praktycznych dotyczących ich realizacji. Dlatego autorzy mają nadzieję, że niniejsze opracowanie, również dla lekarzy, będzie przydatne w lepszym zrozumieniu wskazań do diagnostyki zakażenia B19V oraz znaczenia uzyskanych wyników badań. W opracowaniu zwrócono uwagę na te parametry testów diagnostycznych, które mają kluczowe znaczenie dla wiarygodności uzyskiwanych wyników i które są istotne zarówno dla laboratorium jak i zleceniodawcy. W zaleceniach szczegółowo przedstawiono sposób

Zespół autorów:

- 1 Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie
- 2 Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny w Warszawie
- 3 II Klinika Położnictwa i Ginekologii Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego, Pracownia Diagnostyki Prenatalnej Szpitala Bielańskiego w Warszawie
- 4 Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie
- 5 Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, III Katedra Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
- 6 Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych

zlecenia badań, pobierania, transportu i przyjmowania materiału biologicznego. Szczegółowo opisano wymagania dotyczące stosowanej aparatury i testów diagnostycznych oraz sposób zapewnienia jakości badań laboratoryjnych, formułowania, interpretowania i wydawania wyników. W artykule przedyskutowano przyczyny występowania wyników fałszywych oraz zaproponowano sposoby ich unikania.

Centralnym elementem rekomendacji jest algorytm postępowania diagnostycznego oraz ogólne zasady interpretacji wyników badań. Dotychczasowe doświadczenia pokazują, że diagnostyka zakażenia parwowirusem B19 u kobiet w ciąży winna łączyć badania swoistych przeciwciał, zarówno klasy IgG jak i IgM, metodami immunoenzymatycznymi oraz DNA B19V metodami biologii molekularnej, najlepiej ilościowymi. Postępowanie diagnostyczne u płodów z podejrzeniem zakażenia należy opierać na badaniu *real-time PCR*. Autorzy zalecają, aby w przypadku stwierdzenia zakażenia B19V na sprawozdaniu z badań laboratoryjnych umieszczać komentarz wskazujący na konieczność wykonania dalszej specjalistycznej diagnostyki i objęcia kobiety w ciąży odpowiednią opieką medyczną.

Diagnostyka zakażeń parwowirusem B19 została szczegółowo omówiona w odniesieniu do kobiet w ciąży, ponieważ konsekwencje zakażenia mogą być poważne i stanowić zagrożenie dla zdrowia a nawet życia płodu. Przedstawione zasady prowadzenia badań diagnostycznych B19V i interpretacji wyników mogą być stosowane również w przypadku innych grup chorych z prawidłową odpornością. Diagnostyka laboratoryjna zakażeń parwowirusem B19 u chorych z obniżoną odpornością nie powinna opierać się na ocenie odpowiedzi immunologicznej metodami immunoenzymatycznymi, ponieważ istnieje możliwość otrzymania nieadekwatnych wyników badań. W takich przypadkach postępowanie diagnostyczne powinno opierać się przede wszystkim na wykrywaniu DNA wirusa. Zasady rozpoznawania zakażeń B19V u chorych z obniżoną odpornością będą przedmiotem oddzielnego opracowania.

1.1. Biologia parwowirusa B19 (B19V)

Parwovirus B19 (B19V) należy do rodziny *Parvoviridae*, rodzaju *Erythrovirus*.¹ Replikacja B19V zachodzi w prekursorowych komórkach erytroidalnych w szpiku. Receptorem jest antygen P (globozyd) erytrocytów. Wirus wykazuje powinowactwo również do innych komórek, np. megakariocytów, miocytów mięśnia sercowego, fibroblastów, śródbłónka, hepatocytów czy błony maziowej stawów. Bezosłonkowy B19V – jeden z najmniejszych wirusów wywołujących zakażenia u ludzi – jest oporny na termiczne i chemiczne metody inaktywacji stosowane przy produkcji preparatów krwi. W transfuzjologii do najskuteczniejszych sposobów eliminacji tego patogenu z osocza zaliczana jest metoda nanofiltracji.²⁴

Jednoniciowy DNA parwowirusa B19 koduje białka kapsydu – VP1 i VP2 oraz niestrukturalne NS1. Białko VP1 odgrywa kluczową rolę w odpowiedzi immunologicznej, tropizm wirusa determinuje białko VP2, natomiast białko NS1 jest odpowiedzialne za śmierć zakażonej komórki.³ Do chwili obecnej wyróżniono trzy główne formy polimorficzne B19V – genotypy 1, 2, 3. Najbardziej rozpowszechniony jest genotyp 1 występujący na całym świecie. Genotyp 2 jest sporadycznie wykrywany w Europie, natomiast Afryka Zachodnia to miejsce endemicznego występowania genotypu 3.⁵ Zdiagnozowane dwa przypadki genotypu 2 w Polsce u osób z obniżoną odpornością wskazują na krążenie tej formy polimorficznej w naszym kraju.¹⁴

U osób z prawidłową odpornością zazwyczaj nie obserwuje się objawów klinicznych w przebiegu zakażenia B19V. U dzieci może wystąpić rumień zakaźny („choroba piąta” czy objawy infekcji wirusowej z towarzyszącą wysypką), natomiast u dorosłych powiększenie węzłów chłonnych, złe samopoczucie, gorączka, bóle stawów oraz w rzadkich przypadkach

objawy zapalenia mięśnia sercowego.²⁴

Kobiety nie posiadające przeciwciał anti-B19V są narażone na zakażenie parwowirusem B19 w okresie ciąży, które w konsekwencji może prowadzić do poronienia czy nieimmunologicznego obrzęku płodu (szczególnie w I i II trymestrze ciąży) oraz niedokrwistości płodu czy noworodka. Zakażenie płodu parwowirusem B19 może być także przyczyną zapalenia mięśnia sercowego, zapalenia wątroby oraz uszkodzenia łożyska. W większości przypadków rokowania długoterminowe u dzieci, które przeżyją wewnątrzmaciczną infekcję B19V są dobre.^{6,12}

Szczególną grupę chorych, u których mogą wystąpić istotne problemy kliniczne w przebiegu zakażenia parwowirusem B19 stanowią osoby z niedoborem odporności (np. zakażone wirusem HIV, chorzy otrzymujący leki immunosupresyjne, chemioterapię). W wyniku reaktywacji B19V bądź infekcji de novo może dojść u nich np. do przewlekłej niedokrwistości. U pacjentów z pobudzonym układem czerwokrwinkowym w szpiku może wystąpić przejściowy przełom aplastyczny.²⁴

Model przebiegu zakażenia u osób z prawidłową odpornością został opisany na podstawie analizy eksperymentalnego zakażenia zdrowych ochotników. W pierwszej fazie, kiedy przeciwciała anti-B19V nie są jeszcze wykrywane (okienko serologiczne) liczba kopii DNA-B19V we krwi obwodowej osiąga największą wartość i może dochodzić nawet do 10^{14} IU/ml. W tym okresie mogą pojawić się niespecyficzne objawy kliniczne, np. gorączka, ból głowy, dreszcze czy niewielkie obniżenie liczby krążących elementów krwi. Po około 2 tygodniach od wnikięcia wirusa do organizmu zaczynają być wytwarzane przeciwciała klasy IgM. Ich pojawienie się rozpoczyna drugą fazę infekcji i koreluje z redukcją stężenia DNA wirusa. W części przypadków wraz ze wzrostem stężenia swoistych przeciwciał obserwowany jest kolejny rzut objawów chorobowych: wysypka, świąd, bóle stawów oraz nieistotny klinicznie spadek stężenia hemoglobiny. Do serokonwersji dochodzi po około tygodniu od pojawienia się przeciwciał klasy IgM. Wtedy zaczynają być produkowane anti-B19V klasy IgG, natomiast anti-B19V klasy IgM zanikają. Przeciwciała klasy IgG wiążące białko NS1 są markerem świadczącym o przebytych bądź przewlekłym zakażeniu. Przeciwciała klasy IgM są zwykle obecne w surowicy przez około 3 miesiące, ale mogą być wykrywane znacznie dłużej. Takie przedłużające się występowanie anti-B19V klasy IgM nawet powyżej roku obserwowano u polskich dawców krwi.¹⁵ Przyjmuje się, że swoiste przeciwciała klasy IgG utrzymują się w organizmie do końca życia i skutecznie chronią przed kolejnymi infekcjami. Badania z zastosowaniem bardzo czułych metod molekularnych wykazały, że wirus może pozostać w organizmie przez wiele lat, nie dając objawów klinicznych. W takim przypadku mówi się o przewlekłym zakażeniu parwowirusem B19.^{2,3,45} Przykładowo u jednego z polskich dawców krwi udokumentowano utrzymywanie się DNA B19V we krwi obwodowej przez ponad 3 lata. Przez większość tego czasu stężenie DNA wirusa utrzymywało się na poziomie 10^3 IU/ml.¹³

1.2. Przenoszenie zakażenia B19V, jego ograniczanie oraz epidemiologia

Zakażenie parwowirusem B19 następuje zazwyczaj przez drogi oddechowe. Do transmisji wirusa może również dojść przez łożysko od matki do płodu, z przeszczepionymi tkankami (np. szpikiem), narządami (np. nerką) czy poprzez przetoczenie krwi i jej składników oraz produktów krwiopochodnych.^{2,3,7} Zakres badań czynników zakaźnych przy produkcji preparatów osoczopochodnych, w tym wirusa B19, określają zapisy Farmakopei Europejskiej (*European Pharmacopoeia 2004*), zgodnie z którymi stężenie DNA B19V w puli osocza do produkcji immunoglobuliny anti-D nie może przekroczyć poziomu 10^4 IU/ml. Preparaty immunoglobulin anti-D podawane są pacjentkom w trakcie ciąży lub zaraz po porodzie



cobas z 480

· system do wykrywania
B19V metodą PCR
w czasie rzeczywistym
(real-time PCR)

w celu zapobiegania w kolejnej ciąży konfliktowi matczyno-płodowemu w zakresie układu Rh. Dopuszczalną wartość wirerii DNA B19V w puli osocza określono na podstawie obserwacji ilości przeciwciał neutralizujących anty-B19V w puli osocza pochodzących od dawców po przebytej infekcji. Stwierdzono, że ich stężenie pozwala zneutralizować wirus DNA B19V na poziomie poniżej 10^4 IU/ml i tym samym skutecznie ograniczy infekcyjność wirusa. Szacuje się, iż średnio u około 60% dawców są obecne przeciwciała anty-B19V. W pulach osocza wykrywa się przeciętnie 60 IU anty-B19V/ml. W Polsce badaniom w kierunku DNA B19V poddawane jest także osocze do produkcji immunoglobuliny anty-HBs.¹⁶ Większość producentów składników leczniczych uzyskiwanych z osocza (czynniki krzepnięcia itp.) obecnie wymaga badania DNA B19V przed rozpoczęciem procesu produkcyjnego.

Zakażenie B19V jest powszechne na całym świecie i ma charakter sezonowy. Zwiększoną liczbę zachorowań głównie wśród dzieci i młodzieży szkolnej obserwuje się późną zimą lub wczesną wiosną. Co 3-4 lata odnotowuje się epidemie B19V. Odsetek osób z przeciwciałami klasy IgG wzrasta wraz z wiekiem. Częstość występowania swoistych przeciwciał klasy IgG wynosi 2-15 % u dzieci w wieku 1-5 lat, 30-40 % wśród młodzieży (do 15 lat), 40-60 % u osób do 20 roku życia, a w populacji dorosłych może przekroczyć nawet 90 %.^{3,17,18}

Badania markerów serologicznych w populacji polskiej były dotychczas prowadzone w różnych grupach. W niewielkiej liczbowo populacji dawców częstość anty-B19V klasy IgG wynosiła blisko 35 %.¹⁹ Częstość wykrywania markerów serologicznych B19V jest wyższa w niektórych grupach chorych, np. wśród chorych na hemofilię, co związane jest z leczeniem w przeszłości krwią i produktami krwiopochodnymi. W tej grupie chorych, która niegdyś otrzymywała wiele transfuzji nie poddawanych inaktywacji (mediana wieku – 29 lat) przeciwciała występują w blisko 82 %.¹⁹

W trakcie badań dawców krwi obecność DNA wykrywa się u 0,6–0,003 %.^{2, 24-31} W Polsce w latach 2004-2010 DNA B19V stwierdzono w 0,1 % donacji przeznaczonych do frakcjonowania.¹³

Na podstawie dotychczasowych obserwacji uważa się, że nawet u 50 % zakażonych kobiet ciężarnych następuje transmisja wirusa od matki do płodu, a u blisko 10 % z nich obserwuje się poważne powikłania, np. poronienie, nieimmunologiczny obrzęk płodu czy niedokrwistość płodu.^{7,10,12,23} Trudna jest do oszacowania liczba powikłań mających wpływ na zdrowie i rozwój dzieci urodzonych z zakażeniem B19V. Szacuje się, iż około 40 % kobiet w wieku rozrodczym w Polsce jest narażona na zakażenie B19V, a u 1-2 % dochodzi do infekcji.²²

Przyjmując, że w Polsce co roku rejestrowanych jest 400 tysięcy kobiet w ciąży należy szacunkowo uznać, że u 6000 dochodzi do zakażenia parwowirusem B19, a u 3000 ma miejsce transmisja wirusa do płodu i wówczas u około 300 płodów należy spodziewać się istotnych powikłań klinicznych. Zatem należy uznać, że w Polsce jest to problem nie diagnozowany w sposób prawidłowy.

1.3. Diagnostyka laboratoryjna zakażenia parwowirusem B19 u kobiet w ciąży

Przeprowadzenie diagnostyki laboratoryjnej zakażenia parwowirusem B19 u kobiety w ciąży rozważone jest w trzech sytuacjach:

- a. gdy istnieje podejrzenie infekcji B19V w następstwie ekspozycji na zakażenie (kontakt kobiety w ciąży lub przed poczęciem z osobą, u której zdiagnozowano zakażenie),
- b. gdy istnieje podejrzenie objawowego zakażenia B19V u kobiety w ciąży w sytuacji stwierdzenia objawów klinicznych u ciężarnej lub u płodu,
- c. w przypadku poronienia o nieznanym przyczynie.

Objawy kliniczne spotykane w trakcie infekcji B19V nie mają charakteru swoistego. Mogą być

wywołane innymi przyczynami o charakterze nieinfekcyjnym, jak również mogą towarzyszyć innym zakażeniom wirusowym (np. różyczce, grypie). Dlatego też w sytuacji uzasadnionej klinicznie należy wykonać badania diagnostyczne pozwalające na zróżnicowanie zakażenia parwowirusem B19 od innych infekcji wirusowych.¹⁸

Należy zauważyć, że potwierdzenie aktywnego zakażenia B19V pozwala podjąć odpowiednie działania polegające na odizolowaniu zakażonej osoby. Szczególnie ważna jest izolacja takiej osoby od chorych z innych grup zwiększonego ryzyka wystąpienia istotnych powikłań klinicznych w następstwie zakażenia B19V, w tym od innych kobiet w ciąży. Tego typu działania mogą wymagać czasowej zmiany organizacji oddziału szpitalnego lub przychodni w przypadku przyjmowania pacjentki z potwierdzonym zakażeniem B19V. W sytuacji zdiagnozowania ostrej infekcji u kobiety ciężarnej zasadne jest zapewnienie jej oddzielnego pokoju w przypadku koniecznej hospitalizacji, szczególnie jeżeli została przyjęta na oddział, na którym przebywają pacjentki w ciąży. W ten sposób przed zakażeniem i potencjalnymi powikłaniami chroni się kobiety seronegatywne należące do grupy wysokiego ryzyka powikłań klinicznych ze względu na brak przeciwciał anti-B19V klasy IgG. Uzasadnione jest również takie organizowanie przyjmowania kobiet z infekcją B19V w przychodniach, aby chronić przed ekspozycją innych potencjalnie B19V-seronegatywnych pacjentów z grup ryzyka, a w szczególności kobiety ciężarne.

Należy rozważyć wykonanie badania przeciwciał anti-B19V u kobiety w ciąży, która z racji wykonywanego zawodu (np. nauczyciel, pracownik służby zdrowia) czy sytuacji rodzinnej (małe dzieci w gospodarstwie domowym) może być szczególnie narażona na infekcję B19V. Takie postępowanie pozwoli określić status serologiczny B19V ciężarnej i w konsekwencji ocenić ryzyko zakażenia.

Swoista diagnostyka laboratoryjna zakażenia parwowirusem B19 oparta jest na metodach immunoenzymatycznych oraz biologii molekularnej. W pierwszym przypadku wykrywane są przeciwciała anti-B19V, natomiast w drugim DNA wirusa. Badaniem pomocniczym w diagnozowaniu zakażenia B19V jest ocena cytologiczna szpiku.^{4,11,20,21}

1.3.1. Badania diagnostyczne metodami serologicznymi

Metody serologiczne mają zastosowanie w badaniach przeciwciał anti-B19V klasy IgM oraz IgG, ich stężenia i typów konformacyjnych. Na rynku dostępne są testy immunoenzymatyczne (ELISA) oraz testy *Western blot*.

W teście ELISA, dzięki zastosowaniu płytek opłaszczonych antygenami białek strukturalnych VP1 i VP2 wirusa, które tworzą kompleksy immunologiczne z właściwymi przeciwciałami anti-B19V klasy IgM i IgG, można ocenić stężenie przeciwciał obecnych we krwi chorego.

W niektórych przypadkach wskazana jest ocena przebiegu infekcji B19V przez badanie przeciwciał w kolejnych próbkach. Analiza wyników pozwala ocenić dynamikę zmian ich stężenia oraz dostrzec serokonwersję.

Z punktu widzenia diagnostycznego badania serologiczne są przydatne szczególnie u osób immunokompetentnych (np. w diagnozowaniu rumienia zakaźnego, objawów poliartralгии, u kobiet w ciąży).

1.3.2. Badania diagnostyczne metodami biologii molekularnej

Metody molekularne oparte na wykrywaniu kwasu nukleinowego wirusa stanowią nowoczesne i czułe narzędzie w diagnozowaniu zakażenia parwowirusem B19. Obecnie stosowane testy oparte na amplifikacji kwasów nukleinowych generują wyniki jakościowe bądź ilościowe. Nowoczesną metodą, współcześnie najczęściej stosowaną, jest reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym (*real-time PCR*), która wykrywa pojedyncze



cobas z 480

· system do wykrywania
B19V metodą PCR
w czasie rzeczywistym
(*real-time PCR*)

kopie wirusa w różnym materiale, np. w pełnej krwi, osoczu, surowicy, płynie owodniowym, tkankach. Metoda ta przy wykorzystaniu technik fluorescencyjnych pozwala ocenić ilość zamplifikowanego produktu w trakcie trwania reakcji PCR. Jej zastosowanie umożliwia ilościową analizę DNA B19V oraz monitorowanie przebiegu zakażenia w czasie. Dzięki temu możliwe jest rozgraniczenie infekcji istotnych (zazwyczaj w ostrej fazie zakażenia, manifestujące się wysoką wiremią oraz powiązane z objawami klinicznymi) i nieistotnych klinicznie (przeważnie charakteryzujące się niskim stężeniem DNA oraz niezwiązane z objawami klinicznymi). W przypadku zastosowanego postępowania ograniczającego infekcję ilościowe metody molekularne pozwalają ocenić jego skuteczność.

1.3.3. Inne metody diagnostyczne

Test Western blot może być uzupełnieniem testu ELISA. Pozwala on zróznicować odpowiedź immunologiczną chorego wobec białek VP1, VP2 i NS1 parwowirusa B19. Dzięki temu można ocenić fazę zakażenia, a więc czy jest to zakażenie ostre, przewlekłe czy reinfekcja. Dodatkowym, pomocniczym badaniem szacującym czas trwania zakażenia jest test do oznaczania awidności przeciwciał klasy IgG. Badanie jest przydatne w sytuacji, gdy w surowicy chorego nie są obecne przeciwciała klasy IgM. Wysoka awidność przeciwciał pozwala wykluczyć infekcję w ostatnich kilku tygodniach i wskazuje na fazę przewlekłą infekcji.

Badanie cytologiczne szpiku stanowi cenne poszerzenie diagnostyki zakażenia parwowirusem B19, w szczególności w przypadku pacjentów w klinikach i poradniach hematologicznych. U osób zakażonych B19V w obrazie mikroskopowym szpiku można zaobserwować olbrzymie pronormoblasty. Jednakże należy pamiętać, iż badanie to nie może być jedynym kryterium rozstrzygającym, bowiem komórki te są często nieobecne, np. u pacjentów z HIV czy z innymi przewlekłymi infekcjami. Stwierdzenie wspomnianego typu komórek jest wskazaniem do przeprowadzenia diagnostyki wirusologicznej. Badanie polimorfizmu genomu parwowirusa B19 z zastosowaniem metod sekwencjonowania pełni ważną rolę poznawczą, szczególnie w trakcie analiz epidemiologicznych, ustalaniu dróg przenoszenia zakażenia czy modyfikacji istniejących testów diagnostycznych o nowo wykrywane warianty wirusa.²⁻⁴

1.4. Trudności i ograniczenia diagnostyki laboratoryjnej

Zarówno badania metodami serologicznymi jak i molekularnymi niosą ze sobą trudności i ograniczenia.

Badania immunoenzymatyczne obarczone są błędem związanym z istniejącym prawdopodobieństwem uzyskania wyników ujemnych u osób zakażonych oraz fałszywie dodatnich.

Przeciwciała anty-B19V nie są wykrywane w pierwszej fazie zakażenia – podczas gwałtownej replikacji wirusa, która prowadzi do osiągnięcia maksymalnego stężenia DNA B19V. Szacuje się, że okres okienka serologicznego trwa nie dłużej niż 14 dni i jest to parametr specyficzny dla testów różnych producentów.

W niektórych sytuacjach, zwłaszcza gdy stężenie wirusa jest bardzo wysokie, okres, w którym nie są wykrywane swoiste przeciwciała ulega wydłużeniu. Zjawisko to ma miejsce np. w początkowej fazie zakażenia, kiedy dochodzi do całkowitego związania przeciwciał neutralizujących z wirionami parwowirusa B19. Aktywne domeny przeciwciał, które determinują ich swoistość mogą być w takiej sytuacji trudno dostępne i w rutynowym badaniu można uzyskać wynik fałszywie ujemny.³²

Zaobserwowanie serokonwersji umożliwia rozpoznanie zakończenia wczesnej fazy infekcji oraz może wskazywać na rozpoczęcie przewlekłej fazy zakażenia B19V. Wykrycie wyłącznie

przeciwciał klasy IgG nie zawsze pozwala różnicować aktualną infekcję od zakażenia przebytego. Badania anty-B19V nie są wystarczającym narzędziem diagnostycznym u osób z upośledzoną odpornością, leczonych immunosupresją czy w diagnozowaniu zakażenia B19V u płodu.^{14,33}

Diagnostyka zakażenia parwowirusem B19 oparta na technikach biologii molekularnej również niesie ze sobą pewne trudności. Niektóre testy zarówno komercyjne jak i wytworzonych przez laboratorium (*home-made*) charakteryzują się obniżoną czułością kliniczną wykrywania niektórych form polimorficznych, w szczególności genotypu 2 i 3 lub w ogóle ich nie wykrywają. Dlatego też, podejmując decyzje o zastosowaniu danego testu, należy mieć pewność, że wykrywa wszystkie formy polimorficzne B19V z taką samą czułością.^{33,34-37}

Istotne trudności diagnostyczne związane są także z ryzykiem otrzymania wyników fałszywie ujemnych w próbkach z wysoką wiremią. Z taką sytuacją możemy mieć do czynienia we wczesnej fazie zakażenia lub u osób z osłabioną odpornością, gdy wiremia może osiągnąć wartość 10^{14} IU/ml. Wówczas w trakcie badań metodą *real-time PCR*, aby uniknąć wydania wyniku fałszywie ujemnego konieczna jest wnikliwa analiza wykresu fluorescencji. Należy podejrzewać, że mamy do czynienia z wynikiem fałszywie ujemnym, gdy cała linia krzywej fluorescencji przebiega powyżej tzw. linii odcięcia (ang. *threshold*). Taka sytuacja może mieć miejsce wówczas, gdy ilość wirusowego DNA jest skrajnie wysoka (m.in. powyżej zakresu liniowości testu). W związku z tym nie można wyznaczyć wartości Ct. W przypadku podejrzenia zakażenia B19V ze skrajnie wysoką wiremią ostateczną interpretację wyniku należy oprzeć na analizie rozcieńczonej próbki.^{38,39}

Ze względu na możliwość wystąpienia wysokiej wiremii szczególnie ważne jest zachowanie procedur ograniczających możliwość kontaminacji. Wygenerowanie wyniku fałszywie dodatniego może nastąpić nie tylko na skutek zanieczyszczenia ujemnej próbki produktem amplifikacji, ale także cząsteczkami wirusa obecnymi w badanym materiale. Do kontaminacji może dojść zarówno w fazie przedanalizy, jak i podczas izolacji DNA czy nastawiania reakcji *real-time PCR*.

Samo wykrycie DNA B19V nie zawsze wskazuje na wczesną fazę infekcji. Niska zawartość DNA może utrzymywać się miesiącami, a nawet latami przy braku jakichkolwiek objawów klinicznych.^{42,44,45} Analiza markerów B19V u 19 zakażonych dawców bez jakichkolwiek objawów klinicznych wykazała utrzymywanie się DNA B19V na niskim poziomie (średnio 400 IU/ml) przez okres powyżej 1 roku (dane IHiT, 2014 r.). Dlatego badanie ilościowe pozwala na różnicowanie zakażenia ostrego o potencjalnym znaczeniu klinicznym i przewlekłego, do którego mogło dojść nawet wiele lat wcześniej. W pierwszej fazie zakażenia liczba cząsteczek wirusa B19 jest bardzo wysoka, a następnie spada. Należy przy tym pamiętać, iż u osób z obniżoną odpornością wysoka wiremia B19V może utrzymywać się dłużej niż u osób immunokompetentnych. Zmniejszenie ilości wirusa może nastąpić w wyniku terapii mającej na celu podniesienie odporności chorego, zwłaszcza odpowiedzi immunologicznej typu humoralnego, poprzez zmniejszenie immunosupresji czy podanie immunoglobulin. Do oceny przebiegu zakażenia, w tym skuteczności postępowania terapeutycznego, zaleca się monitorowanie stężenia DNA B19V.^{14,33}



cobas z 480
· system do wykrywania
B19V metodą PCR
w czasie rzeczywistym
(*real-time PCR*)

*Piśmiennictwo dostępne
w redakcji*

Dokładność pomiaru stężenia glukozy przy pomocy systemu ACCU-CHEK® Inform II

Wymagania ISO 15197
i POCT12-A3

STRESZCZENIE MENADŻERSKIE

Celem niniejszego sprawozdania była ocena skuteczności systemu ACCU-CHEK® Inform II w odniesieniu do zmienionej niedawno normy ISO 15197 oraz najnowszych wytycznych Instytutu Norm Klinicznych i Laboratoryjnych dla POCT12-A3 w zakresie dokładności glukometrów stosowanych w miejscu opieki nad chorym.^{1,2} Zarówno zmienioną normę, jak i wytyczne opublikowano w roku 2013. Przeprowadzono dodatkową analizę danych z badania, zrealizowanego w roku 2012³, z zastosowaniem kryteriów akceptacji określonych w treści nowych norm, w celu oceny skuteczności systemu ACCU-CHEK® Inform II z użyciem pozostałych próbek pełnej krwi tętniczej i żyłnej.

Zaktualizowana norma ISO 15197 wymaga, aby 95 % wszystkich zmierzonych wartości stężenia glukozy mieściło się w granicach (i) $\pm 0,83$ mmol/L (15 mg/dL) wartości odniesienia przy stężeniu glukozy $< 5,55$ mmol/L (100 mg/dL) oraz (ii) ± 15 % wartości odniesienia przy stężeniu glukozy $\geq 5,55$ mmol/L (100 mg/dL). POCT12-A3 wymaga, aby 95 % wszystkich zmierzonych wartości stężenia glukozy mieściło się w granicach (i) $\pm 0,67$ mmol/L (12 mg/dL) wartości odniesienia przy stężeniu glukozy $< 5,55$ mmol/L (100 mg/dL) oraz (ii) $\pm 12,5$ % wartości odniesienia przy stężeniu glukozy $\geq 5,55$ mmol/L (100 mg/dL). Dodatkowo, POCT12-A3 wymaga, aby mniej, niż 2 % wszystkich wyników indywidualnych zawierało (i) błędy przekraczające $\pm 0,83$ mmol/L (15mg/dL), w przypadku stężenia glukozy $< 4,2$ mmol/L (75mg/dL), oraz (ii) błędy przekraczające ± 20 %, w przypadku stężenia glukozy $\geq 4,2$ mmol/L (75 mg/dL).

Łącznie, 99,6 % wszystkich wyników uzyskanych przy pomocy systemu ACCU-CHEK® Inform II zmieściło się w przedziale dokładności zdefiniowanym w treści normy ISO 15197; 98,5 % zmieściło się w przedziale dokładności zdefiniowanym dla POCT12-A3. Wyniki te przekraczają ustalony próg akceptowalności pomiarów, wynoszący 95%, ustalony w treści zarówno normy ISO 15197, jak i wytycznych POCT12-A3. Dodatkowo, wyniki zawierające błędy wykraczające poza próg określony w wytycznych POCT12-A3, stanowiły mniej niż 0,1 % wszystkich wyników indywidualnych, a zatem dużo mniej, niż wynosi ustanowiona w treści dokumentu górna granica 2%.

Wyniki te wskazują, że skuteczność działania systemu ACCU-CHEK® Inform II przekracza wymagania w zakresie dokładności, ustanowione w poprawionej normie ISO 15197, oraz spełnia wymagania zarówno dokładności, jak i dopuszczalnej liczby błędnych pomiarów, określonej w wytycznych POCT12-A3.

WPROWADZENIE

Glukometry stosowane w miejscu opieki nad pacjentem (*point-of-care, POC*) pozwalają na zmierzenie wartości stężenia glukozy we krwi bezpośrednio przy łóżku czy w otoczeniu pacjenta, ułatwiając szybkie podejmowanie decyzji co do odpowiedniego leczenia. System ACCU-CHEK® Inform II to glukometr przenośny, już dziś stosowany w szpitalach. Kryteria skuteczności działania glukometrów stosowanych w POC określa szczegółowo norma ISO 15197.¹ Poprzednia wersja tej normy (ISO 15197:2003) została ostatnio zaktualizowana (ISO 15197:2013), w wyniku czego zaostrzono kryteria pomiarów stężenia glukozy. Dodatkowo, Instytut Norm Klinicznych i Laboratoryjnych wydał własną normę, POCT12-A3, określającą skuteczność glukometrów POC.²

W obu normach uwzględniono konieczność zastosowania okresu przejściowego, aby pozwolić producentom na spełnienie określonych w nich wymagań; podczas, gdy norma POCT12-A3 weszła w życie w styczniu 2013 r., należy spodziewać się, że nowa norma ISO15197 uzyska moc obowiązującą nie wcześniej, niż w roku 2016.¹

ISO 15197 wprowadza dwie zmiany w odniesieniu do oceny dokładności urządzenia. W wydaniu z roku 2003 pojawił się wymóg, aby 95 % wszystkich wartości stężenia glukozy zmierzonych POC mieściło się w granicach (i) $\pm 0,83$ mmol/L (15 mg/dL) wartości odniesienia przy stężeniu glukozy $< 4,2$ mmol/L (75 mg/dL) oraz (ii) ± 20 % wartości odniesienia przy stężeniu glukozy $\geq 4,2$ mmol/L (75 mg/dL). Wydanie drugie wymaga, aby 95 % wszystkich wartości stężenia glukozy zmierzonych POC mieściło się w granicach (i) $\pm 0,83$ mmol/L (15 mg/dL) wartości odniesienia przy stężeniu glukozy $< 5,55$ mmol/L (100 mg/dL) oraz (ii) ± 15 % wartości odniesienia przy stężeniu glukozy $\geq 5,55$ mmol/L (100 mg/dL). Zmiana ta ma na celu utrzymanie przyjętych wymogów dokładności dla zakresu 4,2 mmol/L (75 mg/dL) oraz wyegzekwowanie większej dokładności powyżej 4,2 mmol/L (75 mg/dL).¹ Określone tu wymagania ilustruje tabela 1.

NORMA

POCT12-A3 2 jest bardziej restrykcyjna i wymaga, aby 95 % wszystkich wartości stężenia glukozy zmierzonych POC (i) mieściło się w granicach $\pm 0,67$ mmol/L (12 mg/dL) wartości uzyskanych przy pomocy analiz laboratoryjnych przy stężeniu glukozy $< 5,55$ mmol/L (100 mg/dL) oraz (ii) mieściło się w granicach $\pm 12,5$ % wartości uzyskanych przy pomocy analiz laboratoryjnych przy stężeniu glukozy $\geq 5,55$ mmol/L (100 mg/dL). Dodatkowo, norma POCT12-A3 definiuje kryteria błędu, wymagając, aby mniej, niż 2% wszystkich wyników indywidualnych zawierało błędy przekraczające (i) $\pm 0,83$ mmol/L (15 mg/dL) dla stężenia glukozy $< 4,2$ mmol/L (75 mg/dL) oraz (ii) ± 20 % dla stężenia glukozy $\geq 4,2$ mmol/L (75 mg/dL) (tabela 1).

Aby określić, czy system ACCU-CHEK® Inform II spełnia nowe wymagania ISO pod względem dokładności ISO, jak również kryteria wytycznych POCT12-A3, przeprowadziliśmy dodatkową analizę pomiarów stężenia glukozy, wykonanych w ramach badania, zrealizowanego w roku 2012.³

Tabela 1: Podsumowanie wymagań w zakresie dokładności i dopuszczalnych błędów, określonych w treści norm ISO15197:2013 i POCT12-A3

Norma	ISO15197:2013		POCT12-A3			
	Dokładność		Kryterium dokładności 1)		Kryterium błędu 2)	
Stężenie glukozy mmol/L (mg/dL)	$< 5,55$ [100]	$\geq 5,55$ [100]	$< 5,55$ [100]	$\geq 5,55$ [100]	$< 4,2$ [75]	$\geq 4,2$ [75]
Zakres mmol/L lub % (mg/dL)	$\pm 0,83$ [15]	$\pm 15\%$	$\pm 0,67$ [12]	$\pm 12,5\%$	$\pm 0,83$ [15]	$\pm 20\%$
Wartości mieszczące się w zakresie	> 95 %		> 95 %		< 2 %	



ACCU-CHEK® Inform II

· kompaktowy aparat do monitorowania glikemii przy łóżku chorego



ACCU-CHEK® Inform II

w stacji dokującej



ACCU-CHEK® Inform II

· zestaw

METODY

Pobieranie próbek, korekta i analiza danych

W okresie od marca do września 2012 r., 2951 pozostałości anonimowych, „pierwotnych” próbek krwi tętniczej i żyłnej pozyskano z Universitätsklinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsmedizin in Mannheim, Niemcy, i poddano je testom w laboratorium diagnostycznym Roche Professional Diagnostics, Mannheim, Niemcy. Aby ocenić skuteczność systemu dla całego wymaganego zakresu stężeń glukozy we krwi, wygenerowano dodatkowo 2397 próbek „korygowanych”. Stężenie glukozy w pierwotnych próbkach krwi zmieniono poprzez zwielokrotnienie stężenia lub poprzez dopuszczenie do procesu glikolizy. W rezultacie, otrzymano łącznie 5348 pierwotnych i skorygowanych próbek krwi. Każdą próbkę przetestowano przy pomocy systemu ACCU-CHEK® Inform II. Próbkę odniesienia spreparowano przy użyciu próbki pełnej krwi tętniczej/ żyłnej. Wartości odniesienia określono w sposób następujący. Duplikat każdej próbki pełnej krwi poddawano odbiałczeniu w kwasie nadchlorowym (PCA), a następnie poddawano testom przy pomocy systemu cobas® 6000 z zastosowaniem metody heksokinazy (HK).

Próbki odniesienia wykorzystano do analizy porównawczej, udowadniając, że różnica pomiędzy duplikatami mieści się w granicach ± 4 mg/dL dla stężenia glukozy < 100 mg/dL, lub ± 4 % dla stężenia glukozy ≥ 100 mg/dL. Wartości dla duplikatów spełniających te kryteria uśredniono przed obliczeniem wartości dla stężenia glukozy w osoczu. Nie wykluczono żadnych danych ze względu na takie parametry, jak hematokryt, temperatura czy poziom wilgotności. Wyniki uzyskane przy pomocy glukometru porównano z wynikami odniesienia PCA HK, określającymi stężenie glukozy w osoczu.

MATERIAŁY

Zużyto trzy partie pasków testowych ACCU-CHEK® Inform II (Tabela 2).

PRÓBKİ WYŁĄCZONE Z BADANIA

Łącznie, z zakresu oceny wykluczaliśmy 33 wyniki. Cztery wartości otrzymane z próbek o skorygowanym stężeniu glukozy zostały wykluczone, ponieważ przekroczyły zakres pomiarowy systemu. Dwadzieścia wartości (13 próbek pierwotnych; 7 skorygowanych) wykluczono, ponieważ wartość odniesienia PCA HK w przypadku duplikatu różniła się od oryginalnej o ponad ± 4 % (patrz analiza danych). Trzy próbki zostały wykluczone z uwagi na uzyskanie tylko jednego wyniku odniesienia. Wreszcie sześć próbek wykluczono z powodu potencjalnych problemów z samą próbką lub niezgodności co do objętości próbki. Łącznie objęto więc oceną 5315 próbek (2934 pierwotnych, 2381 ze skorygowanym stężeniem glukozy).

Tabela 2: W badaniu wykorzystano trzy partie pasków testowych ACCU-CHEK® Inform oraz 8 glukometrów ACCU-CHEK® Inform II

Opis: ACCU-CHEK® Inform II	G LP (Nr partii)	Data ważności/ data kalibracji
Pasek testowy	47D520 (Partia 1) 47D529 (Partia 2) 47D557 (Partia 3)	maj 2013 czerwiec 2013 sierpień 2013
Poziom kontroli 1	10100930	maj 2013
Poziom kontroli 2	10100930	maj 2013
Glukometr	UU13000293 UU13000456 UU13000463 UU13000468 UU13000469 UU13000S05 UU13000512 UU13000520	BD

BEZPIECZEŃSTWO BADANIA I KONTROLA JAKOŚCI

W trakcie badania nie odnotowano działań niepożądanych związanych ze stosowaniem glukometru. Zastosowano dwa poziomy kontroli jakości. Na każdym poziomie kontrolę wdrażano na początku lub na końcu dnia, po rozpoczęciu lub zakończeniu kolejnego opakowania pasków testowych. W ramach każdej kontroli pozyskiwano co najmniej 20 wyników. Wszystkie wyniki kontroli wskazały na zadowalającą skuteczność w wyniku każdego opakowania pasków testowych.

WYNIKI

Łącznie przebadano 5315 próbek ze wszystkich trzech partii pasków testowych. 3570 próbek (1933 pierwotne, 1637 skorygowanych pod względem stężenia glukozy) przebadano przy pomocy pasków testowych z partii 1. 1316 próbek (736 pierwotnych; 580 skorygowanych) przebadano przy pomocy pasków z partii 2. 429 próbek (265 pierwotnych; 164 skorygowanych) przebadano przy pomocy pasków z partii 3.

W przypadku pasków z partii 1, 2 i 3, odpowiednio 99,6 %, 99,7 % i 99,8 % wszystkich zmierzonych wartości spełniło kryteria dokładności, zdefiniowane w ISO 15197 (Rys. 1 i Tabela 3).

Tabela 3. ISO 15197: Liczba i odsetek wartości stężenia glukozy, mieszcząca się w przedziale dokładności określonym w ISO 15197 dla poszczególnych partii oraz suma dla partii, dla wartości stężenia glukozy powyżej i poniżej 5,55 mmol/L (100 mg/dL). Wg kryteriów ISO 15197, 95 % wszystkich wartości stężenia glukozy musi mieścić się w określonym zakresie. Uwaga: podane wartości zaokrąglono

Stężenie glukozy									
ISO 15197	Razem	< 5,55 mmol/L (100 mg/dL)		≥ 5,55 mmol/L (100 mg/dL)			Łącznie		
		± 0,83 mmol/L (15 mg/dL)	%	Razem	± 15%	%	Razem	W zakresach	%
Lot 1 (470520)	1 468	1 467	99,9	2 102	2 067	99,3	3 570	3 554	99,6
Lot 2 (470529)	593	593	100,0	723	719	99,4	1 316	1 312	99,7
Lot 3 (470557)	198	198	100,0	231	230	99,6	429	428	99,8
Total	2 259	2 258	100,0	3 056	3 036	99,3	5 315	5 294	99,6



ACCU-CHEK® Inform II
· kompaktowy aparat do monitorowania glikemii przy łóżku chorego



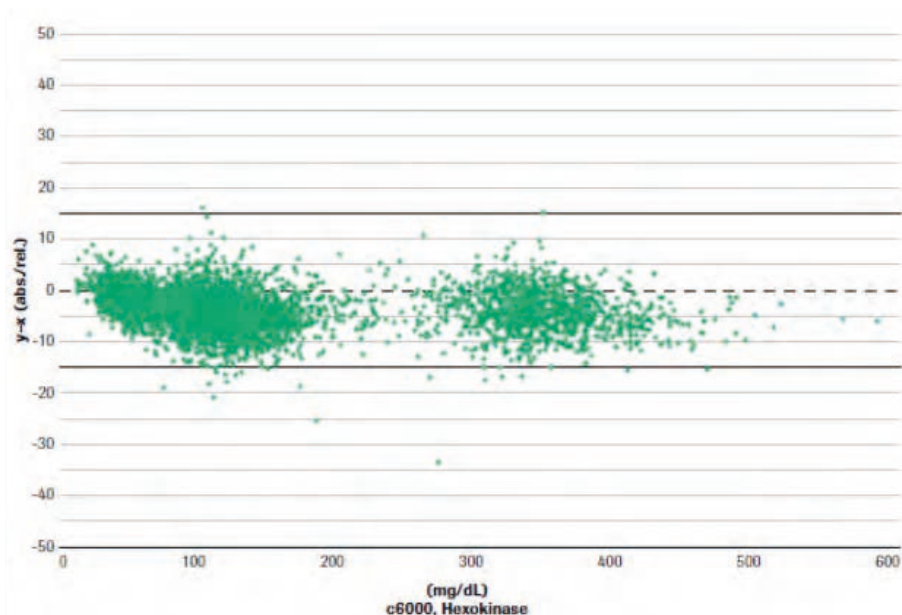
ACCU-CHEK® Inform II
w stacji dokującej



ACCU-CHEK® Inform II
· zestaw

1 ISO 15197:

Wszystkie wartości stężenia glukozy powyżej i poniżej 5,55 mmol/L (100 mg/dL). Wśród tych wartości, 99,6 % spełniło wymagania ISO 15197. Wartości bezwzględne i względne błędu, jak również zakresy $\pm 0,83$ mmol/L (15 mg/dL) oraz ± 15 %, przedstawiono odpowiednio dla wartości stężenia glukozy $< 5,55$ mmol/L (100 mg/dL) oraz $\geq 5,55$ mmol/L (100 mg/dL).



W przypadku partii 1, 2 i 3 pasków testowych, odpowiednio 98,4 %, 98,6 % i 98,8 % wszystkich zmierzonych wartości spełniało kryteria dokładności systemu, zdefiniowane w wytycznych POCT12-A3 (Rys. 2 i Tabela 4a). Ponadto, zakres błędu dla wszystkich trzech partii wynosił od 0,0 do 0,2 (Rys. 3 i Tabela 4a), a zatem był znacząco niższy od wartości granicznej wynoszącej 2%, zdefiniowanej w POCT12-A3.

W przypadku jednego wyniku odnotowano błąd przekraczający poziom $+0,83$ mmol/L dla wartości stężenia glukozy $< 4,2$ mmol/L (75 mg/dL). W przypadku trzech wyników stwierdzono błędy przekraczające $+ 20$ % dla wartości stężenia glukozy $\geq 4,2$ mmol/L (75 mg/dL). Oznacza to, że dla 4 na 5315 wartości (0,1 %), kryteria błędów zdefiniowane w zaleceniach POCT12-A3 nie zostały spełnione (Tabela 4b).

Tabela 4a. POCT12-A3, kryterium 1: Liczba i odsetek wartości stężenia glukozy w zakresie dokładności podanym w POCT12-A3 dla poszczególnych partii oraz łączna liczba dla wszystkich partii, dla wartości stężenia glukozy powyżej i poniżej 5,55 mmol/L (100 mg/dL). Wg zaleceń POCT12 A3, 95 % wszystkich wartości stężenia glukozy musi mieścić się w określonym zakresie.

Stężenie glukozy									
	< 5,55 mmol/L (100 mg/dL)			> 5,55 mmol/L (100 mg/dL)			Łącznie		
	Razem	$\pm 0,67$ mmol/L (12 mg/dL)	%	Razem	$\pm 12,5\%$	%	Razem	W zakresach	%
PO CT12-A3									
Partia 1 (470520)	1 468	1 461	99,5	2 102	2 053	97,7	3 570	3 514	98,4
Partia 2 (470529)	593	590	99,5	723	707	97,8	1 316	1 297	98,6
Partia 3 (470557)	198	197	99,5	231	227	98,3	429	424	98,8
Razem	2 259	2 248	99,5	3 056	2 987	97,7	5 315	5 235	98,5

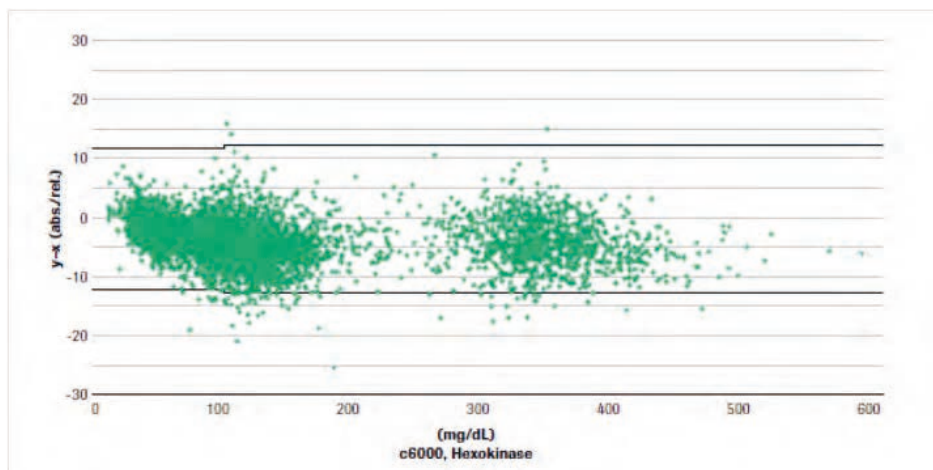
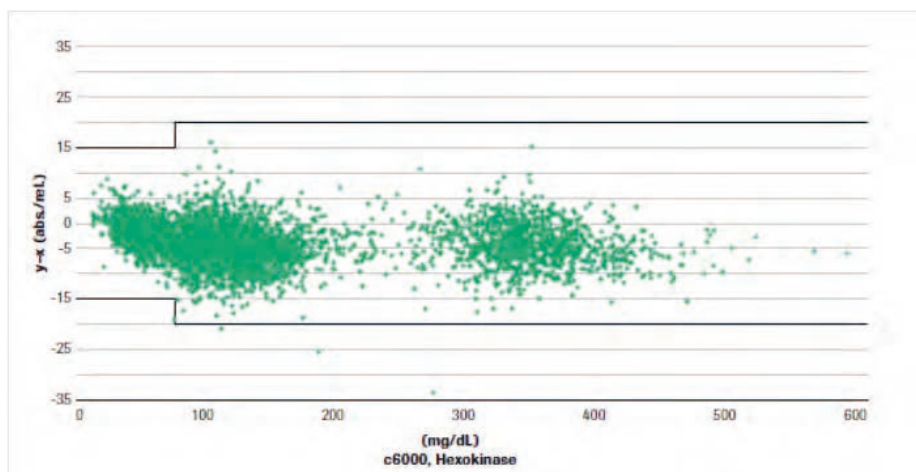


Tabela 4b. Wytyczne POCT12-A3, kryterium 2: Liczba i odsetek wartości stężenia glukozy przekraczających określone w POCT12-A3 wartości graniczne błędów dla poszczególnych partii oraz sumy dla wszystkich partii dla wartości stężenia glukozy powyżej i poniżej 4,2 mmol/L (75 mg/dL). Wg kryteriów POCT12-A3, mniej niż 2% wszystkich wyników pomiarów stężenia glukozy może wykraczać poza określone zakresy. Uwaga: zgodnie z wytycznymi POCT12-A3, wymagane jest spełnienie kryteriów zarówno tabeli 4a, jak i 4b

Stężenie glukozy									
POCT12-A3	< 4,2 mmol/L (75 mg/dL)			> 4,2 mmol/L (75 mg/dL)			Łącznie		
	Razem	$\pm 0,83$ mmol/L (15 mg/dL)	%	Razem	$\pm 20\%$	%	Razem	Poza zakresami	%
Partia 1 (470520)	979	1	0,1	2 591	2	0,1	3 570	3	0,1
Partia 2 (470529)	389	0	0,0	927	0	0,0	1 316	0	0,0
Partia 3 (470557)	139	0	0,0	290	1	0,3	429	1	0,2
Razem	1 507	1	0,1	3 808	3	0,1	5 315	4	0,1



2 Wytyczne POCT12-A3, kryterium 1:

Wszystkie wartości stężenia glukozy poniżej i powyżej 5,55 mmol/L (100 mg/dL). W tej grupie, 98,5 % próbek spełniło kryterium 1 określone wymaganiami POCT12-A3. Przedstawiono wartości bezwzględne i względne błędów, jak również zakresy $\pm 0,67$ mmol/L (12 mg/dL) oraz $\pm 12,5$ %, dla wartości stężenia glukozy wynoszących odpowiednio $< 5,55$ mmol/L (100 mg/dL) oraz $\geq 5,55$ mmol/L (100 mg/dL).



ACCU-CHEK® Inform II
w stacji dokującej

3 Wytyczne POCT12-A3, kryterium 2:

Wszystkie błędne pomiary stężenia glukozy powyżej i poniżej 4,2 mmol/L (75 mg/dL). Wynika z tego, że 0,1 % wszystkich błędów przekroczyło kryterium 2, określone w treści POCT12-A3. Przedstawiono wartości bezwzględne i względne błędów, jak również zakresy $\pm 0,83$ mmol/L (15 mg/dL) oraz $\pm 20\%$, dla wartości stężenia glukozy wynoszących odpowiednio $< 4,2$ mmol/L (75 mg/dL) oraz $\geq 4,2$ mmol/L (75 mg/dL).

Dla wszystkich trzech partii, łączna liczba wykonanych pomiarów wyniosła 5315. 99,6 % z nich spełniło wymogi ISO 15197 [100,0 % dla wartości stężenia glukozy < 5,55 mmol/L (100 mg/dL) oraz 99,3 % dla wartości stężenia glukozy ≥ 5,55 mmol/L (100 mg/dL); Tabela 3]. Ponadto, 98,5 % wszystkich wyników spełniło wymagania POCT12-A3 [99,5 % w przypadku wartości stężenia glukozy < 5,55 mmol/L (100 mg/dL) oraz 97,7 % w przypadku wartości stężenia ≥ 5,55 mmol/L (100 mg/dL); Tabela 4a]. Wskaźnik błędów dla całości pomiarów wyniósł 0,1%, a więc był niższy od wskaźnika 2%, zdefiniowanego w zaleceniach POCT 12-A3.

WNIOSKI I ZALECENIA

Łącznie, 99,6 % wszystkich wyników ACCU-CHEK® Inform II spełniło kryteria dokładności określone w normie ISO 15197:2013. Wynik ten znacznie przekracza próg 95 %, ustanowiony dla kryterium dopuszczalności wyników pomiarów przeprowadzonych z użyciem glukometru POC, zdefiniowanego w treści normy.

Zakresy dokładności, określone wytycznymi POCT12-A3, są bardziej restrykcyjne. 98,5 % wszystkich pomiarów przeprowadzonych przy pomocy urządzenia ACCU-CHEK® Inform II zmieściło się w przedziale dokładności, zdefiniowanym w normie POCT12-A3. Oznacza to, że próg 95 %, ustanowiony dla kryterium dopuszczalności wyników pomiarów przeprowadzonych z użyciem glukometru POC, zdefiniowanego w treści normy POCT12-A3, został przekroczony. Tylko 0,1 % wszystkich wyników zawierało błędy przekraczające wartości progowe, określone w normie POCT12-A3. To znacznie mniej, niż górna granica w wysokości 2 %, ustanowiona w treści tej normy.

Wyniki wskazują, że skuteczność urządzenia ACCU-CHEK® Inform II pod względem dokładności jest większa, niż wymagana w aktualnej wersji normy ISO 15197 oraz przewyższa wymagania co do dokładności i dopuszczalnej liczby błędów, określone w normie POCT12-A3. Oznacza to, że ACCU-CHEK® Inform II spełnia kryteria dopuszczalności wszystkich istotnych norm i wytycznych, obowiązujących obecnie, jak również tych, które mogą wejść w życie w dającej się przewidzieć przyszłości.

45 doroczne spotkanie na temat onkologii kobiecej

Prof. dr hab. med. Jerzy Sergiusz Stelmachow

NOWE METODY DIAGNOSTYCZNE

W części dotyczącej profilaktyki i diagnostyki, między innymi, przedstawiono nowe metody oparte na technikach molekularnych i immunohistochemicznych.

GYNplus jest testem opartym na technikach sekwencjonowania nowej generacji, który wykrywa mutacje 9 genów: (BRCA 1, BRCA 2, EPCAM, MLH 1, MSH 2, MSH 6, PMS 2, PTEN, TP 53), związanych z czterema zespołami rodzinnych nowotworów: dziedzicznym rakiem piersi i jajnika, zespołem Lyncha, zespołem Cowdena oraz zespołem Li-Fraumani.

p16/Ki-67 – zakażenie HPV powoduje zaburzenia cyklu komórkowego oraz zwiększa ekspresję białka p16, co charakteryzuje zmiany o znacznym stopniu dysplazji. W diagnostyce różnicowej zmian nabłonka szyjki macicy wykazano, że oznaczenie p16/Ki-67 w przypadkach stwierdzenia w badaniach cytologicznych LSIL (*Low Squamous Intraepithelial Lesions*) u pacjentek HPV pozytywnych pozwala zmniejszyć liczbę badań kolposkopowych o 35%. Test ten, charakteryzuje się dużą czułością i jest zalecany przez liczne grupy ekspertów, w tym członków Narodowego Instytutu Raka, Bethesda.

Statmina (onkoproteina 18) – dla oceny ryzyka wczesnego nawrotu raka trzonu macicy (około 20% populacji leczonych) przydatne jest oznaczanie stężenia statminy (STMN-1, onkoproteina 18). Ekspresja STMN-1 koreluje z agresywnością nowotworu i wzrostem ryzyka jego nawrotu.

EndoGENE™ – panel wykorzystuje analizę DNA metodą qPCR w celu wykrycia wczesnych agresywnych postaci raka macicy, które odniosą korzyść z chemioterapii. Jednoczasowe oznaczenie wielu markerów pozwala przewidzieć odpowiedź na wybrane cytostatyki

Biomarkery raka jajnika – przedstawione dane wskazują, że w przedoperacyjnej diagnostyce guzów przydatków zastosowanie w praktyce klinicznej mają panele zawierające oznaczenia CA-125, HE4, prolaktyny, PDGF-AA, OVA 1 oraz IL 8. U pacjentek z rozpoznanym rakiem jajnika wykazano przydatność trzech testów molekularnych. Pierwszego, opartego na technologii PCR identyfikującego polimorfizm pojedynczych nukleotydów (SNPs) w celu rozpoznania ewentualnych powikłań leczenia systemowego jeszcze przed rozpoczęciem chemioterapii. Drugim proponowanym testem był test identyfikujący klucz genowy do rozpoznania chemiooporności, a trzecim, test oceniający ekspresję białek w poszczególnych wybranych genach. Ten ostatni, stosowany w zaawansowanych postaciach raka jajnika i nawrotach ma wpływ na wybór opcji terapeutycznych (terapia celowana).

POSTĘPY TERAPII

Na zjeździe omówiono liczne kwestie dotyczące metod leczenia nowotworów ginekologicznych co pozwoliło na usystematyzowanie dotychczasowej wiedzy w tym zakresie. Prelegenci podkreślali celowość stosowania leczenia skojarzonego, ścisłą weryfikację pacjentek do leczenia chirurgicznego w oparciu o różnorodne kryteria laboratoryjne, obrazowe i kliniczne (m.in. CA-125 > 500 U/ml) oraz wskazania do chemioterapii neoadjuwantowej (obecność w badaniu CT nacieku krezki jelita, zoatrzewnowa limfadenopatia szczególnie przy wnęce nerki, wszczepy wokół śledziony, pogrubienie jelita cienkiego). Podkreśla się konieczność zwiększenia liczby zabiegów radykalnych oraz łączenie ich z chemioterapią dootrzewnową. Prezentowane były prace o wykorzystaniu robotów w przypadkach wczesnych postaci raka trzonu macicy, czy oszczędzających zabiegów we wczesnych postaciach raka szyjki u pacjentek chcących zachować zdolność do rozrodu, wyniki badania węzłów wartowniczych w celu redukcji ryzyka nawrotów raka sromu.

Duży nacisk położono na leczenie chorych otyłych i po 70 roku życia. Otyłość jest problemem

Zeszłoroczne 45 doroczne spotkanie na temat onkologii kobiecej odbyło się w Tampie na Florydzie organizowane, jak co roku (od 1969 r.) przez amerykańskie Towarzystwo Onkologii Ginekologicznej (Society of Gynecologic Oncology, SGO). Uczestniczyło w nim blisko 4500 lekarzy z 140 krajów (w tym 1800 ginekologów onkologów). Prezentowanych było 909 doniesień. Mnogość sesji oraz towarzyszących obradom kursów powodowała, że uczestnicy stawali przed naprawdę trudnym wyborem odpowiednich dla siebie wykładów. Oprócz ciekawych tematów, na Kongresie prezentowanych było 530 prac w formie plakatów – wszystkie na bardzo wysokim poziomie. Całości dopełniało 55 stanowisk firm farmaceutycznych, produkujących sprzęt medyczny oraz zajmujących się szeroko pojętą edukacją. Zagadnienia poruszane na obradach dotyczyły nowoczesnych metod diagnostyki i leczenia skojarzonego (chirurgicznego, systemowego, radioterapii) chorych na nowotwory złośliwe narządu rodowego oraz zasad opieki paliatywnej. Osobną grupą tematyczną były wyniki badań klinicznych nowych cząsteczek poszukiwanych w celu indywidualizacji terapii i wdrażania leczenia celowanego w ginekologii onkologicznej.

społecznym w USA i w opinii onkologów stanowi zły czynnik prognostyczny dla wyników leczenia nowotworów złośliwych. Przedstawiono prezentacje mówiące o celowości stosowania chirurgii bariatrycznej w otyłości olbrzymiej u kobiet, gdyż takie postępowanie zmniejsza ryzyko zachorowania na raka trzonu o 70%. Podnoszono również, kwestię wyboru poszczególnych metod leczenia u pacjentek z BMI > 35. Wykazano, że w tej populacji chorych wyniki leczenia (pierwotna cytoredukcja versus chemioterapia neoadjuwantowa) nie różnią się, a mniejsza liczba powikłań przemawia za leczeniem systemowym w I etapie. Doniesienia dotyczące terapii pacjentek > 70 roku przemawiały za stosowaniem alternatywnych metod leczenia dla chirurgii, ze względu na większą śmiertelność okołoperacyjną w porównaniu z młodszymi chorymi.

W trakcie sympozjum przedstawiono wyniki wielu badań klinicznych, wśród których za najistotniejsze należy uznać:

- **OCEANS.** Przedstawiono w nim wyniki drugorzędowego punktu końcowego, jakim była analiza przeżycia całkowitego porównująca stosowanie gemcytabiny i karboplatyny wraz z bewacyzumabem i bewacyzumabu w monoterapii w leczeniu podtrzymującym do czasu progresji choroby, u pacjentek z pierwszym nawrotem raka jajnika wrażliwego na związki platyny. Wykazano, że średni czas całkowitego przeżycia w obu ramionach badania był podobny i wynosił ponad 18 miesięcy z HR 0,952.
- **Veliparib** należy do grupy leków hamujących polimerazę poli(ADP-rybozy) w badaniu II fazy *Gynecologic Oncology Group* oceniano jego przydatność w leczeniu przetrwałego lub nawrotowego raka jajnika, jajowodu lub pierwotnego raka otrzewnej u pacjentek z wykrytą mutacją germinálną BRCA1 lub BRCA2. Na tym etapie wykazano, że veliparib jest efektywny wśród BRCA-dodatnich kobiet z nawrotem raka jajnika i ma wystarczającą skuteczność kliniczną oraz dobrą tolerancję, co upoważnia do prowadzenia dalszych badań.
- **TRINOVA-1.** Przedstawiono wyniki drugorzędowego celu, jakim była ocena jakości życia pacjentek w badaniu III fazy porównującym cotygodniowy paklitaksel wraz trebananibem lub placebo u kobiet z nawrotowym rakiem jajnika. Wykazano, że trebananib dodany do taksanów nie wpływa negatywnie na jakość życia chorych.
- **GOG 240.** W badaniu stosowano skojarzenie bewacyzumabu z cytostatykami w przypadkach zaawansowanego raka szyjki macicy. Potencjalnym celem GOG 240 była ocena czynników ryzyka terapii antyangiogennej z wykorzystaniem markerów prognostycznych znanych jako kryteria Moore.
- **Mięsak gładkomórkowy.** Wyniki kontrolowanego badania III fazy obejmującego stosowanie gemcytabiny z docetakselem oraz bewacyzumabem lub placebo w przerzutach mięsaka gładkomórkowego, wykazały, że dodatek bewacyzumabu nie przedłuża statystycznie czasu wolnego od choroby (PSF) ani całkowitego przeżycia. U 130 pacjentek zakwalifikowanych do badania – PSF dla ramienia gemcytabina/docetaksel+placebo wynosił 4 miesiące dla gemcytabina/docetaksel + bewacyzumab – 6,7 miesięcy.
- **218 GOG.** Analiza jakości życia w odniesieniu do kosztów związanych z dodaniem do pierwszej linii leczenia raka jajnika bewacyzumabu – wykazała porównywalne wyniki w obu ramionach.

Reasumując, należy stwierdzić, że w onkologii obserwujemy intensywne prace nad udoskonalaniem klasycznych metod rozpoznawania i leczenia chorób nowotworowych.

Karty charakterystyki 2015

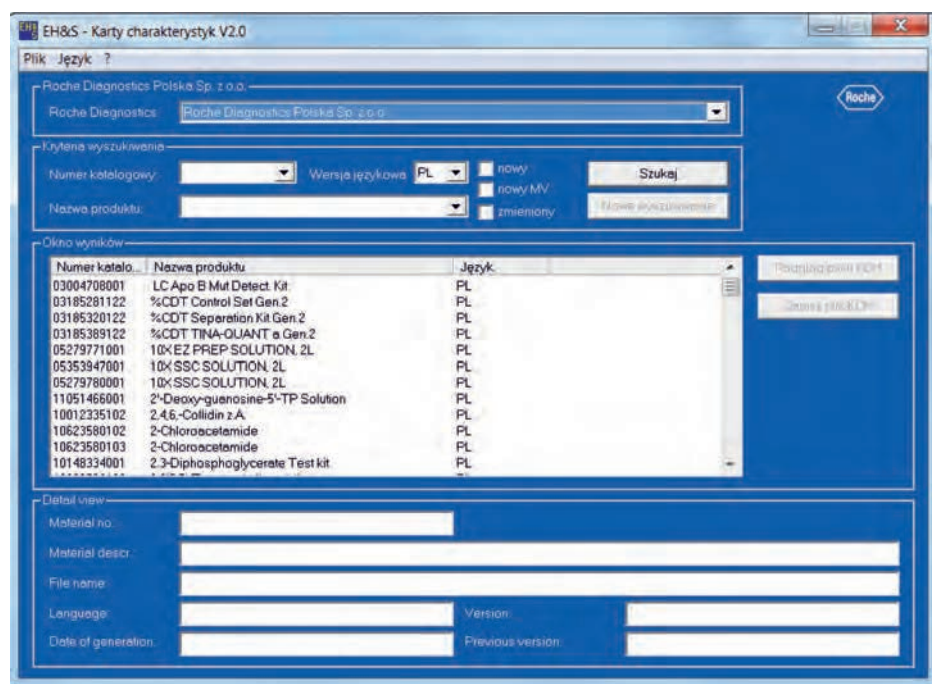
INFORMACJE OGÓLNE

Dołączona płyta CD zawiera karty charakterystyki produktów Roche Diagnostics w formacie PDF, w języku polskim. W aplikacji istnieje możliwość wyszukania numeru i opisu produktu, obejrzenia jednej lub więcej kart charakterystyki produktu oraz wydrukowania ich lub skopiowania do innego folderu.

W celu uzyskania dodatkowych informacji dotyczących zawartości płyty CD lub zagadnień technicznych prosimy o kontakt z administratorem aplikacji, p. Kingą Kowalską, nr tel.: 22 481 54 22, faks: 22 481 55 99, adres e-mail: polska.diagnostics@roche.com

ROZPOCZĘCIE PRACY Z PROGRAMEM

Aplikacja automatycznie rozpoczyna pracę po wprowadzeniu płyty CD do czytnika DVD-ROM. Jeśli nie dojdzie do automatycznego rozpoczęcia pracy, program można uruchomić poprzez dwukrotne kliknięcie pliku „SDS.exe” w wyszukiwarce plików. Instalacja aplikacji nie jest wymagana. Po jej uruchomieniu otworzy się okno aplikacji, jak poniżej.



Okno aplikacji dzieli się na 4 pola:

- pole Roche Diagnostics Sp. z o.o.
- pole Kryteria wyszukiwania służące do wybierania kryteriów wyszukiwania i jego przeprowadzenia.
- pole Okno wyników, gdzie wyświetlone są wyniki wyszukiwania. Aby zobaczyć lub zapisać w pamięci komputera więcej niż jedną kartę charakterystyki produktu, należy nacisnąć klawisz CTRL i nie zwalniając go jednocześnie klikać myszką na wybrane pozycje, a następnie wybrać Podgląd pliku KCH lub Zapisz plik KCH.
- pole Detail View (szczegóły), gdzie wyświetlona zostanie informacja dotycząca bieżących wyników wyszukiwania. Linia Material Description (opis produktu) jest dłuższa od pola Okno

„Rozporządzenie CLP” lub „CLP” (Classification, Labelling and Packaging) to skrót od rozporządzenia (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) 1907/2006 (REACH). Rozporządzenie wdraża do prawa Unii Europejskiej drugie wydanie Globalnie Zharmonizowanego Systemu klasyfikacji i oznakowania chemikaliów (GHS) opracowanego przez Organizację Narodów Zjednoczonych. Rozporządzenie CLP weszło w życie 20 stycznia 2009 roku.

CLP dotyczy producentów, importerów, użytkowników lub dystrybutorów substancji chemicznych lub mieszanin. Niezależnie od wielkości tonażu substancje lub mieszaniny należy zaklasyfikować, oznakować i opakować zgodnie z wymaganiami rozporządzenia CLP zanim zostaną one wprowadzone na rynek Wspólnoty.

Od dnia 1 czerwca 2015 r. mieszaniny są klasyfikowane i oznakowywane i pakowane zgodnie z przepisami rozporządzenia CLP.

Warto pamiętać, że w przypadku mieszanin zaklasyfikowanych i oznakowanych zgodnie z dyrektywą 1999/45/WE, które wprowadzono do obrotu przed dniem 1 czerwca 2015 r., nie muszą być one ponownie oznakowane i pakowane do dnia 1 czerwca 2017 r. (dwa lata na wyprzedanie tego co już zostało wprowadzone na rynek). Ponadto, 29 maja 2015 roku zostało opublikowane nowe rozporządzenie unijne 2015/830, które zgodnie z jego art. 2 daje 2-letni okres przejściowy (do 31 maja 2017) dla kart charakterystyki dostarczonych odbiorcy przed dniem 1 czerwca 2015 roku oraz posiadających podwójną klasyfikację (w podsekcji 2.1) i oznakowanie zgodne z rozporządzeniem CLP (w podsekcji 2.2). Dyrektywa 67/548EWG i dyrektywa 1999/45/WE, a także rozporządzenia Ministra Zdrowia które wdrażały do prawodawstwa polskiego przepisy tych dyrektyw, utraciły moc z dniem 1 czerwca 2015 r.

wyników (Search Result). Ponadto wyświetlone zostaną linie dodatkowe, takie jak File Name (nazwa pliku), Date of Generation (data sporządzenia) i Version (wersja).

KRYTERIA WYSZUKIWANIA:

Możliwe jest wyszukiwanie za pomocą funkcji Numer katalogowy lub funkcji Nazwa Produktu. Każde z tych pól zawiera podlistę zawartości pól, w których wpisy wypełniają się automatycznie. Listę można pokazać lub ukryć naciskając klawisz F4 lub za pomocą kombinacji klawiszy Alt + ↓. Na pasku narzędziowym Wersja językowa istnieje jedynie wersja polska. Jeśli użytkownik potrzebuje karty charakterystyki produktu w kilku językach, można skorzystać z aplikacji internetowej znajdującej się pod adresem: http://www.roche.de/datenblaetter/index.htm?sid=d05d5ff7c6ce959a1033ad1723341c98&nohead=true&allow_sel=true&country=PL&lang=PL lub zgłosić taką potrzebę do administratora aplikacji.

Okno wyników:

Możliwa jest zmiana szerokości kolumny wyników wyszukiwania poprzez odnaczenie kursorem linii dzielącej kolumny (szary pasek w głowce tabeli) i przeciągnięcie jej aż do uzyskania pożądanego rozmiaru, cały czas trzymając jednocześnie naciśnięty lewy przycisk myszy.

Uwaga: Aby wybrać więcej niż jeden zestaw danych (jedna linia w oknie wyników), należy przytrzymać naciśnięty klawisz CLTR, jednocześnie klikając na odpowiednie wyniki wyszukiwania.

Funkcje:

Wybór pomiędzy podanymi poniżej funkcjami możliwy jest za pomocą przycisków lub trybu paska menu:

Szukaj	Wyszukiwanie za pomocą wprowadzonych kryteriów
Nowe wyszukiwanie	Odświeżanie kryteriów wyszukiwania za pomocą wartości domyślnych. Wartością domyślną dla języka jest język aplikacji.
Podgląd pliku KCH	Gdy już wybrano produkty za pomocą kryteriów wyszukiwania, karty charakterystyki dla tych produktów przedstawione zostaną w formacie pliku Acrobat Reader (pdf).
Zapisz plik KCH	Gdy już wybrano produkty za pomocą kryteriów wyszukiwania, karty charakterystyki dla tych produktów zostaną skopiowane. Najpierw otworzy się okno dialogowe z poleceniem wyboru ścieżki, pod którą użytkownik zapisze plik. Karty charakterystyki produktu są przechowywane pod następującymi nazwami plików: numer katalogowy+kod państwa+ „.pdf”
? (Pomoc)	Wyświetla dokumentację użytkownika aplikacji.

