

Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych

Rok 3, numer 3 (8)
Grudzień 2005

Diagnosta Laboratoryjny

GAZETA KRAJOWEJ IZBY
DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH

GAZETA
BEZPŁATNA

*...a Diagnosta życzą, solidni
i solidarni, jak Polacy w oczach
Zachodu: niesterowalni
i nieprzewidywalni!*



...a na Zachodzie bez zmian



*z okazji Świąt Bożego
Narodzenia
i na 2006 Rok*

*Życzymy byśmy mogli
pozostać wolni i solidarni:
z pacjentami i wszystkimi
diagnostami, aptekarzami,
pielęgniarkami i lekarzami;
by jutro nasze lepsze było od*

dziś i wczoraj,

*byśmy realizować mogli swoje ambicje
i aspiracje, zdobywając specjalizacje
udostępnione nam w mijającym roku,*

*by nasze działania nie były sterowane,
a odpowiedzialne nasze postępowanie;*

by nas nie opuszczała waleczność

o prawa swoje i pacjentów;

*byśmy mieli odwagę występować w obronie
słabszych i potrzebujących,*

*by nieznane były praktyki, gdzie lek byłby
podany bez diagnostyki;*

*by zlecony medykament był monitorowany przy
współdziale diagnostyki;*

*by też dzieci i młodzieńcy oraz panny, ich rodzice
i dziadkowie, o badanie laboratoryjne się dobiły,
a lepsze zdrowie i kondycje z Nowym Rokiem dla
się zapewniły.*

*Tego z "Wesołą Nowiną bracia" ... i siostry
kołędując,*

i Wam, i każdemu z osobna,

Prezes, KRDL,

Biuro KIDL, i Redakcja

i każdy wzajemnie od siebie

Życzymy.

PT Marek Jurek
Marszałek Sejmu IV kadencji
Sejm Rzeczypospolitej Polskiej

Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych występuje z prośbą do Pana Marszałka o objęcie patronatem Nadzwyczajnego Krajowego Zjazdu Diagnostów Laboratoryjnych oraz o uświetnienie obecnością Pana Marszałka tegoż Zjazdu.

Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych, jest korporacją diagnostów laboratoryjnych - medycznego zawodu zaufania publicznego, której nadrzędnym celem m.in. jest dbałość i staranie o wysoki poziom świadczeń zdrowotnych zapewniających pacjentom dostęp do badań laboratoryjnych.

Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych na Zjeździe przedłoży delegatom KIDL Kodeks Etyczny, deontologię zawodu diagnosty laboratoryjnego, i będzie to pierwszy kodeks nie tylko w skali kraju, ale i Europy, opracowany i dyskutowany w środowisku 11-stu tysięcznej populacji wykształconych osób, w systemie uniwersyteckim i uczelniach medycznych. Konsultacje i dyskusje nad Kodeksem przebiegały także poza środowiskiem diagnostów laboratoryjnych.

Obszar świadczeń zdrowotnych domaga się szerokiej i autentycznej dyskusji społecznej, przy udziale społeczeństwa i polityków oraz decydentów, niekoniecznie w aspekcie tylko jego finansowania, ale przede wszystkim stać się może płaszczyzną, w której diagności laboratoryjni wspierać będą inicjatywy Rządu RP zmierzające do sanacji gospodarki krajowej, spraw publicznych, jak również dotyczących zachowań etycznie obyczajowych i postaw obywatelskich.

Kodeks deontologia diagnostów laboratoryjnych jest ważnym składnikiem przy ocenie świadczeń udzielanych pacjentom w laboratoriach, oraz próbierzem poziomu świadczeń zdrowotnych dostępnych obywatelom.

Kodeks etyczny kładzie się szczególnym

cieniem i światłem na poziomie, i standardach świadczeń zdrowotnych, dlatego Korporacja chce nadać mu właściwe miejsce i rangę, oraz oprawę w historii Samorządu zawodu diagnosty laboratoryjnego.

Korporacja nasza rozpoczęła realizację zadań od 2003 roku i pomimo, że nie doświadcza wsparcia ze strony funduszy publicznych, to członkowie płacący składki utrzymują swoją korporację i pozwalają osiągać te cele, które inne korporacje spełniać mogą przy znacznym wsparciu ich działań funduszami ze środków publicznych.

Składamy przy tej sposobności wyrazy gratulacji Panu, za wybór do godności Marszałka Sejmu i życzymy, by ta kadencja Sejmu stała się dla naszej drogiej Ojczyzny znamię i czasem reform oraz oczekiwanych przemian na miarę nadziei i potrzeb mieszkalców „Tej Ziemi” rozpoczynając nowy etap odrodzeniowy ku pożytkowi wielu.

Jeszcze raz gratuluję, prosząc w imieniu członków Korporacji, Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych o objęcie patronatem naszego Zjazdu, w dniu 13 stycznia 2006 roku o godzinie 10:00 w sali wykładowej im. Profesora Koszarawskiego w Centrum Onkologii i Instytucie im. Marii Skłodowskiej Curie w Warszawie, przy ul. Roentgena 5, i zaszczylenie nas wszystkich obecnością Pana Marszałka w dniu obrad i debaty nad Kodeksem Etyki Diagnosty Laboratoryjnego.

Z wyrazami
głębokiego szacunku i życzeniami

Prezes Krajowej
Rady Diagnostów Laboratoryjnych
Henryk Owczarek

Z ostatniej chwili
Przed zamknięciem numeru do KIDL
dotarła wiadomość z Kancelarii Sejmu
RP, że Nadzwyczajny Krajowy Zjazd
Diagnostów Laboratoryjnych objęty
zostanie Patronatem Marszałka Sejmu
RP, przez Pana Marka Jurka

W NUMERZE

Różnice między stowarzyszeniami i samorządami zrzeszające osoby wykonujące zawody	4-5
Diagnostyka płynotoku z nosa	5-6
Markey ciągle nadzieją w diagnostyce nowotworów	7-8
Wywiad z Prof. Januszem Morkowskim (Szwajcaria)	9-10
Badania Laboratoryjne wykonywane przy łóżku pacjenta	11
Informacje bieżące KIDL	12-14
Choroba von Willebranda klasyfikacja i diagnostyka	15-19

W biuletynie:

- Uchwały XII posiedzenia Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 10 czerwca 2005 roku.
- Opinie Prawne Rady Prawnego KIDL
- Korespondencja z Pełnomocnikiem Rektora ds. specjalizacji Prof. dr hab. Januszem Solskim
- Wzór umowy dotyczącej szkolenia specjalizacyjnego diagnosty

Uprzejmie informujemy, że
13 stycznia 2006 r. w Warszawie
odbędzie się:

**Nadzwyczajny Krajowy Zjazd
Diagnostów Laboratoryjnych**

Godz. 8.30 Msza św. w intencji
Diagnostów Laboratoryjnych
w Polsce Kaplica Instytutu
Onkologii ul. Roentgena 5.

Rozpoczęcie Zjazdu o godz. 10:00

**Tematem Zjazdu będzie przyjęcie
Kodeksu Etyki Diagnosty Labo-
ratoryjnego.**

Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych
03-428 Warszawa; ul. Konopacka 4
tel. (022) 741-21-55; (022) 741-21-57 (022) 741-11-60;
faks: (022) 741-21-56

Nazwa Odbiorcy: Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych.
03-428 Warszawa; ul. Konopacka 4
Numer rachunku: 72102010420000880200105692
Bank PKO BP. IV Oddział Warszawa

www.kidl.org.pl e-mail: biuro@kidl.org.pl

WYDAWCA
Krajowa Rada
Diagnostów Laboratoryjnych

Redakcja:
Henryk Owczarek
Czesław Główniak
Stanisław Krężel
Tomasz Dryl

Nakład 10 000 + 500 egz.

Druk: Drukarnia A-Z
Andrzej Zieliński
03-741 Warszawa ul. Białostocka 42

**Różnice między stowarzyszeniami
i samorządami zrzeszającymi osoby
wykonujące zawody medyczne****A. Stowarzyszenia**

Stowarzyszenia są dobrowolnymi, samorządowymi, trwałymi zrzeszeniami osób fizycznych (ludzi), powołanymi w celach niezarobkowych, działającymi na podstawie ustawy z dnia 7.06.1989r. "Prawo o stowarzyszeniach" (Dz. U. nr 20, poz. 104 z dalszymi zmianami). Określają one samodzielnie swoje programy działania i struktury organizacyjne oraz uchwalają akty wewnętrzne dotyczące ich działalności. W zasadzie opierają swoje funkcjonowanie na pracy społecznej członków, choć mogą też zatrudniać pracowników. Nie mogą się opierać na zasadzie bezwzględnej posłuszeństwa członków wobec władz stowarzyszenia. Przynależność do nich jest dobrowolna; nikt nie może ponosić negatywnych konsekwencji z powodu przynależności do stowarzyszenia lub pozostawania poza nim. Tworzone są przez członków - założycieli, którzy uchwalają statut i wybierają komitet założycielski (stowarzyszenia zwykle nie muszą mieć nawet statutu, wystarczy uchwalenie regulaminu działalności). Stowarzyszenia dzieli się na tzw. stowarzyszenia rejestrowe, podlegające zarejestrowaniu we właściwym sądzie i wyposażone w osobowość prawną oraz tzw. stowarzyszenia zwykłe, stanowiące formę uproszczoną, nie podlegającą rejestracji i nie będące osobami prawnymi; o powołaniu do życia stowarzyszenia zwykłego jego założyciele zobowiązani są powiadomić organ nadzoru (województwa właściwego ze względu na siedzibę stowarzyszenia), który może ewentualnie zwrócić się do sądu, aby ten zakazał założenia stowarzyszenia założonego w celach niezgodnych z prawem lub nie spełniającego warunków przewidzianych w ustawie "Prawo o stowarzyszeniach".

Zarówno stowarzyszenia rejestrowe, jak i zwykłe podlegają organowi nadzoru (województwu), który posiada w stosunku do nich pewne uprawnienia kontrolne (np. może zażądać odpisu uchwał, przeglądać w lokalu stowarzyszenia dokumenty, żądać niezbędnych wyjaśnień). Organ ten może również zwracać się do sądu o udzielenie władzom stowarzyszenia upomnienia, uchylenie niezgodnych z prawem uchwał, a nawet rozwiązanie stowarzyszenia. Stowarzyszenia rejestrowe mogą prowadzić działalność gospodarczą, jednak dochód z tej działalności nie może być przeznaczony na cele statutowe; stowarzyszenia zwykłe takiej działalności prowadzić nie mogą. Oba te typy mogą być zakładane w dowolnych celach, byleby nie były

sprzeczne z prawem, może to być np. stowarzyszenie hodowców czy miłośników kanarków. Zaliczane są do tzw. osób (prawnych) prawa prywatnego.

B. Samorządy zrzeszające osoby wykonujące zawody medyczne.

Samorządy zawodów medycznych, zorganizowane najczęściej w postaci tzw. izb, funkcjonują na podstawie odrębnych ustaw, wydawanych dla każdego samorządu oddzielnie. Z mocy prawa mają one osobowość prawną, i to bez obowiązku rejestrowania się w sądzie. Wspomniane ustawy określają, (narzucają) cele samorządów, ich strukturę organizacyjną, władze (organy) i sposób ich powoływania (odwoływania); regulują także kompetencje. Samorządy tworzone są przede wszystkim w celu sprawowania nadzoru nad wykonywaniem poszczególnych zawodów medycznych, obrony słusznych interesów zawodowych swoich członków i reprezentowania tych interesów wobec władz państwowych, instytucji publicznych, a nawet - do pewnego stopnia - wobec pracodawców; w tym ostatnim zakresie nie jest łatwe wyrażenie oddzielenia ich kompetencji od uprawnień i zadań związków zawodowych.

Cechą charakterystyczną zastosowanego w Polsce modelu samorządowego jest obowiązek przynależności osoby wykonującej dany zawód medyczny do właściwej izby okręgowej. Egzekucję tego obowiązku przeprowadzono w dość prosty, a zarazem skuteczny sposób, a mianowicie poprzez upoważnienie samorządów (i to na zasadzie wyłączności) do przyznawania swym członkom prawa wykonywania zawodu; oznacza to, że osoba nie zrzeszona w izbie swego zawodu nie może legalnie wykonywać. Oprócz tego na członkach ciąży obowiązek uiszczania ustalonej przez władze składki członkowskiej, stanowiącej główne źródło dochodów samorządu. W Polsce samorządy wyposażone są w znaczną kompetencję. Jak już wspomniano, przyznają one (po sprawdzeniu, że ubiegająca się osoba spełnia określone warunki) prawo wykonywania zawodu; mogą także w przewidzianych prawem warunkach decydować o pozbawieniu tego prawa (i w konsekwencji skreślenia z listy członków) lub jego zawieszeniu. W obydwu ostatnich przypadkach chodzi o osoby, które przestały spełniać ustawowe warunki wykonywania zawodu, ze względu na stan swojego zdrowia nie dają rękojmi jego prawidłowego wykonywania lub wykonywały zawód sprzecznie z zasadami wiedzy medycznej, przepisami lub normami etyki zawodowej; pozbawienie lub zawieszenie prawa wykonywania zawodu z tej samej przyczyny należy do kompetencji specjalnych sądów samorządowych, które

w przypadkach mniej drastycznych - dysponują także szeregiem kar łagodniejszych (od upomnienia poczynając, a na zakazie pełnienia funkcji kierowniczych kończąc). Organy samorządu są reprezentantami zbiorowych interesów zawodowych członków wobec władz państwowych, przy czym jednym z ich ważniejszych uprawnień w tej mierze rozporządzeń wykonawczych itd), o ile przepisy te regulować mają szeroko pojętą ochronę zdrowia, w tym zwłaszcza wpływać na wykonywanie zawodów medycznych.

Organizacja jest zazwyczaj dwuszczeblowa: na obszarze obejmującym zazwyczaj kilka województw działają izby okręgowe, zaś na szczeblu centralnym - izba naczelna. Każda izba ma prawem przewidziane organy (stopnia okręgowego lub naczelnego), a to zjazdy (najwyższa władza), rady (jako organy wykonawcze), komisje rewizyjne, rzeczników dyscyplinarnych oraz sądy. W przypadku Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych organizacją samorządu jest jednoczołowa. Istnieje tylko na szczeblu centralnym Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych.

Samorządy, w swej działalności, są w pełni samodzielne (powinny jedynie przestrzegać obowiązujących przepisów). Samorząd jest niezależny w wykonywaniu zadań i podlega wyłącznie przepisom ustawy samorządowej. Nadzór nad samorządem diagnostów laboratoryjnych sprawuje Minister Zdrowia. Zakres nadzoru określony jest ustawą o diagnostyce laboratoryjnej, np. Minister Zdrowia może zaskarżyć do Sądu Najwyższego uchwałę sprzeczną z prawem.

C. Różnice między stowarzyszeniami, a samorządami.

1. Samorządy powstają na mocy prawa (ex lege) i są od razu wyposażone przez przepisy w osobowość prawną, bez obowiązku rejestracji i kontroli ze strony organu rejestrującego; działanie każdego z nich reguluje odrębna ustawa, narzucająca podstawowe zadania i kompetencje samorządu oraz jego strukturę organizacyjną. W odróżnieniu od tego, stowarzyszenia działają na podstawie jednego aktu prawnego ("Prawo o stowarzyszeniach") i uzyskują osobowość prawną tylko w razie zarejestrowania w rejestrze sądowym (stowarzyszenia zwykle nigdy nie są osobami prawnymi); ich cele wyznaczają (w statucie lub regulaminie) sami członkowie.

2. Samorządy są powołane przede wszystkim do sprawowania kontroli nad wykonywaniem danego zawodu medycznego przez swoich członków, reprezentowania interesów zawodowych tych członków wobec władz państwowych i instytucji

publicznych oraz ochrony wspomnianych interesów; są zatem w swej działalności dość ściśle ukierunkowane. Tymczasem cel, dla którego tworzone jest stowarzyszenie, może być całkowicie dowolny, byleby nie kolidował z porządkiem prawnym.

3. Stowarzyszenia powstają na zasadach pełnej dobrowolności przystępujących do nich osób, podczas gdy przynależność do samorządu zawodowego jest obligatoryjna, ponieważ od tej przynależności zależy możliwość wykonywania zawodu przez zrzeszone w nich osoby.

4. Przepisy wyposażają samorządy w szerokie uprawnienia władcze wobec członków, gdy idzie o sprawy o charakterze zawodowym. Samorządy przyznają i odbierają prawo wykonywania zawodu (oczywiście przy spełnieniu się przewidzianych prawem warunków), zawieszają lub ograniczają członków w możliwości wykonywania tego prawa lub stosują inne przewidziane ustawowo sankcje. Decydują także o możliwości wykonywania praktyki prywatnej i nadzorują jej przebieg. (w przypadku samorządu lekarskiego i pielęgniarek i położnych) Można powiedzieć, że państwo przekazuje w ten sposób samorządom część swoich uprawnień władczych, co zbliża je bardziej do instytucji prawa publicznego niż prawa prywatnego. Stowarzyszenia takich uprawnień nie posiadają, wobec niezdyscyplinowanych lub nierzetelnych członków mogą co najwyżej stosować sankcję ich wykluczenia ze stowarzyszenia, bez dalszych ujemnych konsekwencji prawnych.

5. Funkcjonowanie samorządu nie podlega nadzorowi ze strony organów państwowych; w tym sensie jest on w pełni suwerenny (podlega tylko kontroli sądowej w zakresie łagodności swych uchwał). Stowarzyszenie poddane jest takiemu nadzorowi.

6. Obowiązkowa przynależność do samorządu oraz jego duże uprawnienia w stosunku do członków w sprawach zawodowych sprawiają w praktyce, że mają one znacznie silniejszą pozycję wobec organów państwowych i instytucji publicznych aniżeli stowarzyszenia grupujące osoby, które wykonują ten sam lub podobny zawód. Zarówno Sejm jak i Minister liczą się z ich głosem, co jest istotne przy opiniowaniu przez samorządy projektów różnego rodzaju aktów prawnych dotyczących sfery zawodowej danej wspólnoty członkowskiej. Stowarzyszenia takim atrybutem nie dysponują.

*Tekst opracowany przez prawników na zlecenie Redakcji "Biuletynu Analityki - Diagnostyki Laboratoryjnego" Numer 16-1995
czerwiec-listopad, Wrocław: str. 17-20*

DIAGNOSTYKA PŁYNOTOKU Z NOSA

Dr hab. n. med. Maria Mantur

ADIUNKT

*Zakładu Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej
AMB*

Wyciek płynu mózgowo-rdzeniowego z nosa zwany powszechnie "płynotokiem nosowym" (cerebrospinal rhinorrhea) jest zjawiskiem patologicznym, będącym konsekwencją powstania przetoki pomiędzy wnętrzem czaszki a stropem jamy nosowej lub zatoką czołową, klinową bądź jamą bębenną. Przetoka, przez którą dochodzi do wycieku płynu mózgowo-rdzeniowego powstaje najczęściej w miejscu, w którym kości tworzące podstawę czaszki są najcieńsze. Płyn mózgowo-rdzeniowy może również docierać do jamy nosowej przez trąbkę słuchową z ucha środkowego.

Nasilenie płynotoku zwykle obserwują pacjenci w pozycji stojącej lub przy pochyleniu głowy do przodu. Natomiast każde odchylenie głowy do tyłu lub pozycja na wznak, powoduje spływanie płynu do nosogardzieli, a pacjent odczuwa konieczność częstego przełykania. Niekiedy wyciek płynu mózgowo-rdzeniowego przez nos może być poprzedzony silnym, napadowym bólem głowy, który znacznie słabnie lub nawet całkiem przechodzi w momencie wycieku płynu. Charakterystyczną cechą tego typu płynotoków jest nasilanie wycieku w pozycji leżącej, a cofanie gdy pacjent przyjmie pozycję pionową. Płynotok z nosa niekiedy jest mylnie traktowany jako objaw alergii lub reakcji naczynioruchowej błony śluzowej nosa. Różnicowanie płynotoku nosowego stwarza wiele problemów diagnostycznych a ustalenie bezpośredniej jego przyczyny i lokalizacja przetoki czasem jest wręcz niemożliwe.

Obserwowany płynotok z nosa rzeczywiście zawiera płyn mózgowo-rdzeniowy, a jeżeli tak, to w którym miejscu znajduje się przetoka płynowa.

1. Identyfikacja płynotoku odbywa się poprzez:

- a. badanie podmiotowe i przedmiotowe,
- b. diagnostykę biochemiczną płynu wyciekającego z jamy nosowej.
2. Lokalizacja miejsca wycieku:
- c. diagnostyka obrazowa
- d. badania radioizotopowe.

Dokładny wywiad zebrany od pacjenta jest podstawą planowania badań diagnostycznych. Ważne są informacje o przebytych urazach głowy bądź ropnych zapaleniach opon mózgowo-rdzeniowych. Wywiad powinien dotyczyć przede wszystkim cech fizycznych wyciekającego płynu, takich jak: barwa i przejrzystość oraz czy wyciek jest jednostronny, ciągły

i wodnisty czy raczej napadowy i przypominający wydzielinę kataralną. Ponadto w jakiej pozycji ciała lub głowy nasila się i czy towarzyszą temu inne objawy takie jak zaburzenia węchu, widzenia lub bóle głowy.

Strategia diagnostyczna płynotoku.

Ustalenie, z której komory nosa następuje wyciek zwykle ukierunkowuje w poszukiwaniu ewentualnego miejsca uszkodzenia podstawy czaszki. Z reguły płynotok występuje po stronie uszkodzenia podstawy czaszki, jednak w szczególnych przypadkach, zwłaszcza gdy w następstwie urazu został przemieszczony grzebień koguci lub lemiesz płyn mózgowo-rdzeniowy może się przedostawać na stronę przeciwną przez nozdrza tylne bądź przez perforacje przegrody nosowej. Z tego względu badanie należy wykonać z obu komór nosa.

W zależności od czasu w jakim pojawi się wyciek płynu mózgowo-rdzeniowego przez nos po przebytych urazach czaszki, płynotoki dzielimy na kilka typów:

1. bezpośredni, tzw. natychmiastowy, występujący do 48 godzin po przebytych urazach,
2. wczesny, który pojawia się w przeciągu miesiąca od wystąpienia urazu,
3. późny, występujący około 3 miesiące po urazie,
4. odległy, pojawiający się nawet kilka lat po urazie.

Płynotok może objawiać się jako nieznaczny, wodojasny wyciek z jamy nosowej lub jako spływanie wydzieliny do gardła. Może być podobny do wydzieliny kataralnej, tym samym sugeruje nieżyt nosa. Rozróżnienie tych dwóch, podobnych do siebie stanów klinicznych, jest niejednokrotnie trudnym problemem diagnostycznym. Jednak najtrudniejszy diagnostycznie jest płynotok który pojawia się w odległym czasie po przebytych urazach. Wtedy połączenie faktu urazu z wyciekami płynu mózgowo-rdzeniowego nie jest tak oczywiste.

Powikłania

Podstała przetoka wskutek pęknięcia podstawy czaszki stanowi potencjalne wrota zakażenia, prowadzące z jamy nosowej i zatok przynosowych bezpośrednio do przestrzeni podpajęczynówkowej. Prawdopodobieństwo zakażenia opon mózgowo-rdzeniowych bądź mózgu wzrasta wówczas, gdy wyciek płynu mózgowo-rdzeniowego utrzymuje się ponad 7 dni lub gdy istnieje przepuklina mózgowa do jamy nosowej i zatok przynosowych. Do najczęściej stwierdzanych patogenów w zakażeniach ośrodkowego układu nerwowego należą paciorkowce *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae*.

Prowadząc diagnostykę w kierunku różnicowania wycieku płynu mózgowo-rdzeniowego przez jamę nosową poszukuje się odpowiedzi na dwa zasadnicze pytania:

czy u chorych po świeżym urazie głowy wyciekający płyn może być krwisty. W takim przypadku, we wstępnym rozpoznaniu płynotoku nosowego może być pomocne zauważenie tzw. objawu „halo”, nazywanego również „objawem pierścienia”. Kapiąca wydzielina z nosa na krążek bibuły lub ligniny zarysowuje obraz podwójnego pierścienia, wskutek różnej dyfuzji dwóch płynów tzn. płynu mózgowo-rdzeniowego i krwi. Drugą cechą różnicującą w tym badaniu jest szybkie wysychanie klarownego płynu bez cech „uszywnienia” bibuły lub ligniny, co potwierdza obecność płynu mózgowo-rdzeniowego. Obie próby obarczone są jednak dużym błędem i mogą być stosowane tylko jako badanie pomocnicze.

Diagnostyka laboratoryjna płynotoku.

/vide Tabela 1./

Laboratoryjne różnicowanie płynotoku z nosa ma na celu ustalenie, czy obserwowany wyciek płynu z nosa jest faktycznie płynem mózgowo-rdzeniowym czy tylko wydzieliną kataralną, pochodzącą z błon śluzowych nosa. Różnicowania płynotoku można dokonać na podstawie oceny cech fizyko-chemicznych oraz kilku testów biochemicznych.

Materiał do badań stanowi wyciekający płyn z nosa zebrany do próbówki. Przed wykonaniem badania zebraną wydzielinę należy odwirować. Jeśli płynotok jest skąpy zebranie płynu do próbówki może być trudne. Aby ułatwić zebranie materiału pacjent powinien zatkać jedną komorę nosa i pochylić głowę do przodu. Po nabraniu powietrza silnie wydmuchać nos. Płyn zacznie spływać lub czasem nawet skapywać do próbówki. Czynność należy powtórzyć z drugą komorą nosa, podstawiając kolejną próbówkę. Test glukozowo-peroksydazowy Suchy test paskowy na obecność glukozy jest testem szybkim i niedrogim, jednak obarczonym dużym błędem, zarówno przedlaboratoryjnym jak i laboratoryjnym. Błąd przedlaboratoryjny polega na tym, iż skąpa wydzielina z nosa nie zawsze umożliwia szybkie, całkowite i równomierne zwilżenie pola testowego. Ponadto w przypadku obecności jakichkolwiek innych substancji redukujących, nie zawsze charakterystycznych dla płynu mózgowo-rdzeniowego np. występujących we łzach czy w wydzielinie z błony śluzowej nosa, wynik testu może być fałszywie dodatni. Należy także brać pod uwagę fakt, że suchy test paskowy daje wynik fałszywie dodatni także w przypadku domieszki krwi. Natomiast fałszywie ujemny - w przebiegu bakteryjnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, ponieważ bakterie zużywając glukozę powodują znaczne zmniejszenie jej

stężenia w płynie mózgowo-rdzeniowym. Z uwagi na niską czułość oraz małą swoistość, test glukozowo-peroksydazowy jest polecany wyłącznie jako test przesiewowy, wymagający potwierdzenia. Jeśli materiału jest dużo można wykonać oznaczenie stężenia glukozy metodą biochemiczną na dostępnych aparatach.

Uwaga praktyczna. Stosując suchy test glukozowo-peroksydazowy należy zwrócić szczególną uwagę aby pole testowe było równomiernie zwilżone wydzieliną z nosa, a wynik odczytany dokładnie po upływie czasu podanym na opakowaniu testu.

Poziom chlorków

Stężenie chlorków w wydzielinie z nosa można oznaczyć dysponując nawet niewielką ilością materiału. W płynotoku stężenie chlorków jest zawsze wyższe niż w surowicy krwi chorego, jednak dodatni wynik wymaga potwierdzenia. Na dzień dzisiejszy, przy dostępie do coraz dokładniejszych metod badawczych, diagnostyka płynotoku z nosa na podstawie poziomu chlorków, stanowi jedynie test „skriningowy”.

Test na obecność B-2-transferyny (β -2-t)

Badanie wydzieliny z nosa na obecność β -2-t diagnostyce laboratoryjnej płynotoku z nosa jest czułym i swoistym testem laboratoryjnym. β -2-t jest desalinizowaną izoformą transferyny, która u ludzi występuje tylko w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz w mniejszym stopniu w cieple szklistym oka i w perylimfie. β -2-t nie występuje w surowicy krwi, wydzielinie z błony śluzowej nosa, ślinie czy łzach.

Test na obecność beta-trace-protein (β -t-p)

Białko β -t-p jest lipokalina, która stanowi główny składnik ludzkiego płynu mózgowo-rdzeniowego. Podobnie jak 0-2-t jest uznana za swoisty marker wykrywający nawet niewielkie ilości płynu mózgowo-rdzeniowego w wydzielinie z nosa. Test na obecność P-t-p wykonywany metodą immunoelektroforezy posiada czułość ok. 90%, zaś swoistość testu sięga prawie 100%. Niektórzy autorzy rozważają równoczesne oznaczanie β -t-p i β -2-t w krwi pacjenta.

Oba testy można wykonać metodą immunofiksacji. Jest to metoda czuła, swoista i nieinwazyjna. Pomimo wielu zalet nie jest powszechnie stosowana ze względu na niedostępność aparatury i wysoki koszt badania.

Wymienione testy laboratoryjne czasem mogą okazać się niewystarczające do jednoznacznego stwierdzenia, czy obserwowany wyciek z nosa jest płynem mózgowo-rdzeniowym. Nie informują również o lokalizacji przetoki. Natomiast dodatnie wyniki badań laboratoryjnych są

wskazaniem do wykonania badań obrazowych takich jak RTG, TK, MR czy scyntygrafia izotopowa, które pozwalają na precyzyjne ustalenie miejsca uszkodzenia i lokalizację przetoki w obrębie struktur podstawy czaszki, a tym samym umożliwiają podjęcie decyzji o sposobie leczenia.

Podsumowanie

Bezpośrednie sąsiedztwo okolicy jamy nosowej i zatok przynosowych graniczące z wnętrzem podstawy czaszki sprawiają, że płynotok nosowy powinien być zawsze traktowany jako stan zagrożenia życia. Każde zgłoszenie płynotoku zaobserwowane przez chorego wymaga natychmiastowej interwencji diagnostycznej, w celu stwierdzenia czy jest to wyciek płynu mózgowo-rdzeniowego, czy tylko zwykła wydzielina kataralna, nie wymagająca interwencji chirurgicznej.

Do prostych badań laboratoryjnych nadal powszechnie stosowanych w różnicowaniu płynotoku nosowego należy oznaczenie stężenia glukozy i chlorków w wydzielinie z nosa. Należy jednak pamiętać, że oba badania stanowią tylko test skriningowy, wymagający potwierdzenia. Do badań potwierdzających rozpoznanie płynotoku nosowego należy badanie na obecność β -2-1 lub β -t-p. Oba białka należy oznaczyć zarówno w wydzielinie z nosa, jak i krwi chorego.

Literatura dostępna u autora.

Tabela 1. Prawidłowy płyn mózgowo-rdzeniowy

Cechy fizyko-chemiczne płynu mózgowo-rdzeniowego:

1. Wygląd - wodojasny, bezbarwny
2. Przezroczystość - zupełna, klarowny
3. Ciśnienie - 1,2 kPa (10-200 mmH₂O)
4. SG - 1,006 - 1,009 kg/l
5. Pleocytoza (komórki jednokomórkowe) < 4 / μ l
Dorośli - 0 - 5 / μ l
Noworodki i niemowlaki - 0 - 30 / μ l
6. Glukoza * - 2,24 - 5,04 mmol/l
7. Chlorki - 115 - 130 mmol/l
8. Mleczany - 1,15 - 3,23 mmol/l
9. Białko całkowite - 0,15 - 0,45 g/l
10. Albuminy - 0,1 - 0,3 g/l
11. β -2-t (Beta-2-transferyna) **
0,0014 - 0,0038 g/l
12. β -t-p (beta-trace-protein)
0,00035 - 0,00060 g/l

*) Stężenie glukozy w płynie mózgowo-rdzeniowym należy rozpatrywać w porównaniu do stężenia glukozy we krwi pacjenta. Zazwyczaj w stanie zdrowia stężenie glukozy w płynie jest o ok. 20-30 mg/dl mniejsze niż we krwi (co oznacza, że stanowi tylko ok. 50-70% prawidłowego stężenia glukozy we krwi chorego).

**) Poziom P-2-t w płynie mózgowo-rdzeniowym stanowi ok. 25% transferyny całkowitej.

Markery ciągle nadzieją w diagnostyce nowotworów.

Wiesława Bartnikowa

Markerem nowotworowym mogą być substancje obecne w komórkach guza lub produkowane przez gospodarza w odpowiedzi na wzrost guza. Czasami markerem może być substancja normalnie produkowana przez komórki prawidłowe we wczesnym okresie rozwoju organizmu. W okresie późniejszym w czasie choroby, a szczególnie w chorobie nowotworowej powraca możliwość syntezy tej substancji w zwiększonej ilości np. CEA.

Najczęściej substancja określona jako marker nowotworowy powinna służyć do diagnostyki choroby nowotworowej poprzez stwierdzenie zwiększonej produkcji markera przez tkankę nowotworową i przez to stwierdzony wzrost stężenia we krwi obwodowej lub w innych płynach ustrojowych. W związku z tym potwierdzeniem istnienia choroby nowotworowej jest wzrost stężenia markera.

Potencjalne zastosowanie markerów:

- populacyjne badania przesiewowe,
- diagnoza,
- określenie stopnia zaawansowania,

- wskazówki prognostyczne,
- monitorowanie skuteczności leczenia,
- wykrywanie nawrotów.

Oznaczenie markera nowotworowego powinno odpowiedzieć na pytania:

- czy pacjent jest chory na nowotwór,
- gdzie jest umiejscowiony nowotwór,
- czy nowotwór jest ograniczony czy też rozsiały,
- jak agresywny jest nowotwór,
- czy dojdzie do wznowy po pierwotnym leczeniu,
- który sposób leczenia będzie optymalny dla pacjenta,
- czy można będzie przewidzieć nawrót,
- czy dla pacjenta będzie korzystne wczesne wkroczenie z leczeniem.

Tak, więc stosowane dotąd oznaczenia krążących markerów nowotworowych pozwalają jedynie na odpowiedź, czy zastosowane leczenie jest skuteczne oraz próbują określić symptomy wznowy zanim dojdzie do klinicznie manifestowanych objawów nawrotu bądź przerzutu.

Za wyjątkiem PSA i Tg (tyreoglobulina) większość markerów nie

ogromny oznaczenia stosowano w badaniach przesiewowych czasami tylko wzbogaconymi o równoległe wykonywane badanie fizykalne per rectum. I mimo, że od blisko 10 lat istniały wątpliwości co do kategoriowości wartości diagnostycznej oznaczeń PSA dopiero w ostatnich latach ukazały się prace dokumentujące, iż u mężczyzn, u których stężenie PSA było w zakresie wartości referencyjnych czyli poniżej 4 ng/ml przy pomocy biopsji stwierdzono raka stercza o wysokim stopniu zaawansowania. Publikacje z New England J. Med. z 2003 i 2004 przedstawiały dane kliniczne dokumentujące ten stan rzeczy.

W październikowym Journal of Urology

stężenie PSA ng/ml	liczebność grupy n=250	ilość przypadków n=449	w tym ilość przypadków wysoko zróżnicowa- nego raka stercza n=67
≤ 0,5	468	32(6.6%)	4/32(12,5%)
0.6-1.0	791	80(10.1%)	8/80(10.0%)
1.1-2.0	998	170(17.0%)	20/170(18.8%)
2.1-3.0	482	115(23.9%)	22/115(19.1%)
3.1-4.0	193	52(26.9)	13/52(25.0%)

Aktualne możliwości wykorzystania rutynowych oznaczeń krążących markerów nowotworowych przedstawia tabela:		
Cel	Wykorzystanie	Komentarz
badania przesiewowe	ograniczone do grup wysokiego ryzyka lub niemożliwe	stężenie większości markerów wzrasta dopiero w późnych stadiach choroby
diagnoza	ograniczone do grup wysokiego ryzyka lub niemożliwe	stężenie większości markerów wzrasta dopiero w późnych stadiach choroby
określenie stadium choroby	ograniczone lub niemożliwe	informacje wiążące z badań patologów i badania klinicznego
prognozowanie rozwoju choroby	ograniczone	czasami; nie zawsze stężenie markera wzrasta równoległe ze stopniem zaawansowania
monitorowanie odpowiedzi na leczenie	ważne	szczególnie przy wyborze właściwego tj. skutecznego sposobu leczenia
przewidywanie nawrotu lub remisji	problematiczne	- szczególnie jeśli czas remisji jest krótki - pierwotne leczenie nie było wystarczająco efektywne - u niektórych pacjentów nie są produkowane markery - czasami dochodzi do nawrotu wzrostu stężenia markera

specyficzna dla tkanki, w której rozwija się nowotwór i do wzrostu stężenia może dojść również np. w stanach zapalnych, jak i w przypadku łagodnego rozrostu tkanki. W związku z tym konieczne jest odróżnienie wyników prawdziwie dodatnich od fałszywie dodatnich. Dużym niebezpieczeństwem są wyniki fałszywie ujemne, które mogą pacjentowi przynieść znacznie więcej szkody niż wynik fałszywie dodatni. Przez wiele lat tzw. złotym standardem wśród markerów nowotworowych był antygen prostatospecyficzny PSA. O wyjątkowości przesądzała jego tkankowa specyficzność. Optymizm był

z 2004 r. czołowi urolodzy ze Stanford University School of Medicine (Stamey) katastroficznie przedstawili użyteczność PSA w przypadku raka stercza jako „epokę która już przeszła”. Rzecz jasna nie jest tak źle, a okres szeroko, w populacji mężczyzn powyżej 50 roku życia wykonywanych oznaczeń PSA spowodował, że obecnie do urologów trafiają mężczyźni, u których rozpoznaje się wczesne kliniczne stopnie zaawansowania choroby. W dyskusji padały również propozycje dotyczące celowości oznaczeń PSA u mężczyzn > 65 roku życia, i ostrożnej sugestii, iż z uwagi na wiek pacjenta nie należy włączać leczenia gdyż jedynie 0,003 % mężczyzn powyżej 65 roku życia umiera z powodu raka stercza, a leczenie jest obciążające. Dlaczego warto zatrzymać się chwilę na historii oznaczeń PSA? Przede wszystkim, dlatego żeby nigdy nie być zbyt pewnym wartości diagnostycznej oznaczeń markerów i żeby pamiętać, że wynik oznaczeń laboratoryjnych stanowi tylko dodatkową informację dla wyników innych badań przede wszystkim badań klinicznych. Koniecznie przypomnieć trzeba, że w przypadku monitorowania leczenia nowotworów oznaczanie markerów nowotworowych ma ogromne znaczenie, gdyż wzrost stężenia często wyprzedza objawy kliniczne. Obecnie nadzieje, również w przypadku diagnostyki raka stercza wiąże się z proteomiką, gdyż mimo ogromnego postępu, jaki dokonał się w ostatnich latach w biologii i medycynie pacjenci, u których dziś

rozpoznano nowotwór złośliwy nie czują się bezpieczni. Mamy świadomość, że samemu faktowi wydłużenia życia towarzyszy wzrost zachorowań na różnego rodzaju nowotwory. Statystyki zachorowalności i zgonów są nieubłagane i wskazują na to, że nowotwory, po chorobach układu sercowo-naczyniowego są najczęstszymi przyczynami zgonów.

Niestety w chorobach nowotworowych, za wyjątkiem raka płuc, którego zależność od palenia papierosów udowodniono, nie ma możliwości pierwotnego zapobiegania rozwojowi choroby. Pozostaje wyłącznie enigmatyczna rada:

„prowadzić higieniczny tryb życia”. Dlaczego tak jest – po prostu mimo spektakularnego postępu w biologii i medycynie nadal nie rozumiemy procesów patogenezy nowotworów.

Przyjmujemy, że nowotwór jest chorobą nieprawidłowego wzrostu komórek. Niekontrolowany wzrost (rozrost) komórek nowotworowych wydaje się wynikać z nienormalności zachowania komórek, w których, przypuszczamy, na skutek wielu mutacji w genach związanych z regulacją wzrostu dochodzi do kumulacji zmian powodujących pojawienie się specyficznych białek odpowiadających zmutowanemu genom. Zwykle do nowotworzenia dochodzi albo w obecności onkogeny uaktywnionego z powodu mutacji, albo przy zaniku genów supresowanych na skutek mutacji.

Tak, więc przyjmuje się, że zmiany w genotypie komórek nowotworowych prowadzą generalnie do różnych zmian w funkcjach komórki, które występując w różnych konstelacjach mogą narzucić komórce niekontrolowany wzrost i złośliwy charakter. I tak w wyniku zmian (mutacji) może dochodzić do utraty białek supresorowych bądź też do tworzenia zmutowanych białek posiadających wpływ np. na cykl komórkowy lub procesy apoptozy. To tłumaczy, dlaczego obecnie zainteresowanie krążącymi markerami nowotworowymi zogniskowane jest głównie na badaniach białek nie tylko tych, które pochodzą ze zmutowanych genów. Najczęściej badania prowadzi się metodami stosowanymi w biologii molekularnej, dla niektórych potencjalnych markerów są już też gotowe testy służące do oznaczeń np. dla interkuin, białko Bcl-2 (powodujące odporność na apoptozę komórki).

W pierwszych pracach potwierdzono, że stężenie w surowicy nowych potencjalnych markerów nowotworowych zmienia się podobnie jak to ma miejsce w rutynowo stosowanych markerach. Oczekuje się, zatem, że będzie istniał związek między procesami biologicznymi zachodzącymi w tkance nowotworowej i stężeniem markerów. Kłopot duży polega na tym, że nie ma biochemicznych różnic między

wzrostem komórek prawidłowych i nowotworowych. Być może różnice dotyczą wcześniejszego etapu, w którym specyficzne białka (np. cykliny) decydują czy komórka ma się dzielić czy nie tzn. czy wejdzie w cykl komórkowy czy nie.

Cykl komórkowy ma znaczenie głównie dla kontroli proliferacji i różnicowania komórek natomiast apoptoza jest mechanizmem za pomocą, którego organizm eliminuje komórki, które albo tworzone są w nadmiarze, albo rozwijają się niewłaściwie i stanowią genetyczne niebezpieczeństwo.

Wydaje się coraz bardziej prawdopodobne, że dla rozwoju choroby nowotworowej niezbędne są nie tylko mutacje genowe skoro wiadomo, że są ludzie, u których stwierdzono zmiany w genomie, a nie dochodzi do rozwoju procesu nowotworowego. Na drodze między genotypem a fenotypem istnieje wiele poziomów kontroli i może na każdym poziomie dojść do uszkodzenia choćby tylko struktury białek poprzez potranslacyjne modyfikacje (np. fosforylacja glikozylacja), które zmieniając np. sposób ukształtowania cząsteczki białka wpływają na jego oddziaływanie z innymi cząstkami lub atomami. Odkryto nawet zasady reguł wzajemnego wpływu na regulację genetyczną syntezy białek.

Proteomika - dziedzina zajmująca się badaniem białek rozwija się gorączkowo.

Stworzono techniczne możliwości równoczesnego oznaczania kilkunastu, a nawet kilkudziesięciu białek i automatycznego procesu opracowywania wyników – jest to tzw. technika mikro macierzy białkowych. Najbanalniejszym modelem porównań może być porównanie składu białek tkanki prawidłowej i nowotworowej. Takie badania mogą pomóc „wytypować” białko specyficzne dla danego typu czy podtypu nowotworu skąd już wydaje się prosta droga do przygotowania odpowiedniego leku działającego wyłącznie na to białko specyficzne dla tkanki nowotworowej. Oczywiście to najbanalniejsze rozwiązanie jakim jest porównanie listy białek obecnych w komórkach nowotworowych i porównanie ich z „wykazem” białek w tkance normalnej mimo pozorów banalności ma niewiele szans na realizację z uwagi na prawie nieskończoną możliwość różnicowania białek choćby tylko strukturalną - a więc trudną do identyfikacji.

Szeroko zakrojone badania związane są z białkami biorącymi udział w zasadniczych funkcjach komórek a więc z:

- przesyłaniem informacji
- cyklem komórkowym
- apoptozą
- angiogenezą
- adhezją

Pierwsze trzy funkcje związane są z namnażaniem komórek. Angiogeneza, czyli tworzenie nowych fragmentów sieci

ukrwienia tkanki jest niezbędna dla zapewnienia komórkom guza odżywienia.

Adhezja z kolei jest niezbędna dla komórek, które przenoszą się z krwiobiegiem lub innymi płynami ustrojowymi zatrzymując się w tkankach, w których dochodzi do powstania przerzutu. Wzrasta ilość informacji, że na tych wędrujących komórkach obecne są cząsteczki wyzwalające potencjał nowotworowy powodując rozprzestrzenianie transformacji nowotworowej. Cząsteczki adhezyjne znajdujące się na powierzchni komórki nowotworowej umożliwiają przekroczenie bariery komórka/komórka co jest niezbędne dla przerzutowania.

W badaniach prowadzonych technikami mikromacierzy obecnie posługuje się „czipami” które pozwalają na jednoczesne identyfikowanie nawet kilkudziesięciu tysięcy białek, mimo to perspektywa znalezienia białka specyficznego dla nowotworu jest trochę szukaniem igły w stogu siana.

Przekonuje nas o tym często bardzo indywidualny przebieg choroby u osób z tym samym rozpoznaniem i zdiagnozowanych w wydaje się porównywalnym stadium klinicznego zaawansowania. Dlatego też przypuszcza się, że takich docelowych białek kluczowych, które można wykorzystać dla chemioterapii może być wiele tysięcy. Obecnie medycyna posługuje się około 500 lekami działającymi na określone białko.

Pierwszymi sukcesami w tworzeniu leku na „zamówienie” są:

- Herceptyna stosowana w leczeniu raka sutka i

- Gleevec w mięsakach

Jeśli chodzi o Herceptynę to wiąże się z białkiem kodowanym przez gen c-erbB-2, które jest strukturalnie i funkcjonalnie homologiczne do receptora nabłonkowego czynnika wzrostu. Białko to obecne jest w zwiększonej ilości w surowicy już w początkowym stadium zmiany zanim dojdzie do rozwoju choroby nowotworowej. Nadprodukcję białka kodowanego przez gen c-erbB-2 stwierdzono w raku sutka, jajnika. Niestety możliwości leczenia Herceptyną są ograniczone gdyż tylko w 25-30% raka sutka stwierdza się amplifikację tego genu.

Gwałtowny rozwój badań metodami stosowanymi w biologii molekularnej pozwala mieć jednak nadzieję na to, że w przyszłości rozpoznanie histologa uzupełnione będzie informacjami, które pozwolą na wydzielenie swoistych podklas nowotworu a nowe markery nowotworowe pozwolą na określenie fazy wzrostu komórek raka, jego inwazyjności i potencjału poliferyjnego.

A te dane, można mieć również nadzieję, pozwolą na dobór skutecznego indywidualnie celowego sposobu leczenia.

Wywiad z Panem Profesorem Januszem Morkowskim (Szwajcaria), wykładowcą Polskiego Centrum Badań i Certyfikacji, wybitnym ekspertem w dziedzinie wdrażania systemów zarządzania jakością w laboratoriach

W warunkach gospodarki rynkowej wysoka jakość świadczeń zdrowotnych staje się niezbędnym warunkiem funkcjonowania każdego systemu opieki zdrowotnej. Jakie systemy zarządzania jakością w ochronie zdrowia, a w szczególności w laboratorium medycznym są stosowane w krajach Unii Europejskiej?

W ochronie zdrowia państw UE nie ugruntowała się dotychczas jednolita praktyka odnośnie wdrażanych systemów zarządzania jakością. W szpitalach państw zachodnich najczęściej wdrażany jest system zarządzania jakością (SZJ) zgodny z normą EN ISO/IEC 9001:2000. Nie jest to jednak jedyne rozwiązanie. Dobrym przykładem takich alternatywnych rozwiązań jest Szwajcaria, gdzie prócz nielicznych SZJ wg ISO 9001:2000 opracowano systemy zgodne np. z 14 regułami W. E. Deminga lub też systemy zgodne z 25 procedurami opracowanymi w szwajcarskiej kooperacji międzyszpitalnej. Bywają także systemy będące kombinacją elementów systemowych różnego pochodzenia. Prace nad koncepcją SZJ optymalną dla szpitali są nadal w toku i z pewnością przysporzą nam jeszcze ciekawych rozwiązań.

Natomiast w laboratoriach diagnostyki medycznej bez wyjątku stosowana jest norma dla laboratoriów badawczych i wzorcujących PN EN ISO/IEC 17025:1999.

W ostatnich 3 latach uzupełniona jest ona normą przeznaczoną wyłącznie dla laboratoriów diagnostyki medycznej p.t.: „Laboratoria medyczne: specyficzne wymagania odnośnie jakości i kompetencji” EN ISO/IEC 15189:2003.

Certyfikat jakości według norm ISO jest świadectwem potwierdzającym wdrożenie przez przedsiębiorstwo systemu zarządzania jakością zgodnego z normą ISO 9001. Czy wdrożenie w laboratorium medycznym systemu zgodnego z normą ISO 9001:2000 jest potwierdzeniem odpowiedniej jakości świadczonych przez to laboratorium usług?

Odpowiedź brzmi jednoznacznie: NIE. Jakość usług poświadczyc można jedynie przez akredytację. Akredytacja w rozumieniu UE i zgodnie z ustaleniami Stowarzyszenia „Akredytacja Europejska” (EA) poświadcza, że laboratorium spełnia następujące kryteria: a) laboratorium jest kompetentne technicznie w zakresie akredytowanych usług, b) laboratorium wdrożyło i skutecznie stosuje system zarządzania jakością (SZJ) zgodnie ze zadeklarowaną normą (lub

normami) odniesienia, jak np. PN EN ISO 17025:1999, EN ISO 15189:2002, PN EN ISO 9001:2000, a tym samym gwarantuje, iż jego usługi utrzymywane będą zawsze co najmniej na poziomie jakości zadeklarowanym przez to laboratorium,

c) laboratorium jest niezależne od swoich zleceńodawców, a wyniki jego badań lub pomiarów rzetelnie odzwierciedlają obiektywną rzeczywistość badanego obiektu lub badanej populacji,

d) laboratorium posiada ubezpieczenie od odpowiedzialności cywilnej, dzięki czemu jest w stanie zapewnić swojemu zleceńodawcy odszkodowanie finansowe na wypadek, gdyby poniósł szkody materialne z winy laboratorium (np. na skutek błędnego lub niekompletnego wyniku badania).

W odróżnieniu od akredytacji, certyfikacja poświadcza li tylko fakt, iż wdrożony przez laboratorium SZJ jest zgodny ze zadeklarowaną normą odniesienia.

Istnieje możliwość uzyskania certyfikatu na zgodność z ISO 9001:2000 oraz/ lub akredytacji potwierdzającej spełnienie przez laboratorium wymagań norm EN ISO 17025 i 15189. Czy certyfikacja laboratorium na zgodność z normą ISO 9001:2000 powinna poprzedzać jego akredytację? Poświadczenie certyfikatem zgodności SZJ w laboratorium z normą EN ISO 9001:2000 będzie wskazane i będzie miało uzasadnienie zawsze wtedy, gdy laboratorium działa w większej organizacji/ instytucji (np. w szpitalu), która wdrożyła SZJ zgodny z EN ISO 9001:2000.

Czy kierownictwo instytucji zdecyduje się dodatkowo na akredytację, czyli na poświadczenie kompetencji technicznej i niezawisłości swojego laboratorium przez niezależną stronę trzecią, zależeć powinno od okoliczności i od celowości takiej decyzji. Wskazana wydaje się kolejność: „od całości do detalu”, czyli rozpocząć od ISO 9001:2000 i przejść następnie do PN EN ISO/IEC 17025:1999 plus EN ISO/IEC 15189:2003. Najbardziej racjonalne wydaje się jednak równoczesne wdrażanie wszystkich systemów jako „systemu zintegrowanego”.

Obecnie w obszarze UE działają dwie normy ISO mające zastosowanie w laboratoriach: norma EN ISO/IEC 17025:1999 dotycząca kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących oraz norma EN ISO/IEC 15189:2003 przeznaczona dla laboratoriów diagnostyki medycznej. Czy system wdrażany w laboratorium medycznym powinien być zgodny z obiema normami?

PN EN ISO/IEC 17025 jest normą podstawową dla wszystkich laboratoriów badawczych i pomiarowych. EN ISO/IEC 15189:2003 natomiast jest normą specy-

ficzną dla laboratoriów diagnostyki medycznej, która zawiera szereg dodatkowych wymagań i zaleceń, jak np. konsultowanie się laboratorium z lekarzami lub też udział laboratorium w obchodach klinicznych.

EN ISO/IEC 15189:2003 jest normą kompletną, dobrze przemyślaną i napisaną przez doświadczonych fachowców, co oznacza, że mogłaby być wystarczającą podstawą do akredytacji. Osobiście uważam jednak, że każde laboratorium powinno mieć system zgodny także z normą PN EN ISO/IEC 17025. Takie stawianie sprawy jest uzasadnione szczególnie w chwili obecnej, kiedy ukazuje się nowa wersja tej normy w wydaniu z roku 2005, czyli EN ISO/IEC 17025:2005.

Nowe wydanie normy zawiera nareszcie kilka wymagań, które w moich szkoleniach zalecałem już od lat, jako oczywiste. Wymaga się od laboratorium m.in. „podejścia procesowego” oraz sformułowania celów jakości, do których realizacji służyć mają zarówno procesy, jak i SZJ. Bardziej stanowczo formułuje się także wymagania w stosunku do naczelnego kierownictwa instytucji, jako aktywnej „głowy” systemu, którym zarządza. Tych nowych wymagań nie ma jeszcze w normie 15189:2003 i stąd też zalecenie, aby wszystkie laboratoria pracowały zgodnie z normą EN ISO/IEC 17025:2005.

W procesie diagnostyki medycznej występują błędy i niezgodności wpływające na końcową jakość wyniku badania. W jaki sposób laboratorium diagnostyki medycznej może lub powinno monitorować pojawiające się błędy i niezgodności?

Niezgodności / błędy mogące wpłynąć na zwiększenie niepewności wyniku końcowego badania pacjenta pojawiają się na każdym etapie procesu diagnostycznego. Z własnych doświadczeń (także w Polsce) i z opublikowanych w literaturze fachowej badań na ten temat wiemy, że znacząca większość niezgodności, względnie błędów pojawia się na etapach przedlaboratoryjnych (około 2/3), a także w fazie polaboratoryjnej, czyli już po przekazaniu wyników laboratoryjnych do lekarza lub pielęgniarki. Celem monitorowania jest zidentyfikowanie źródeł pojawiających się niezgodności /błędów oraz analiza przyczyn ich powstawania po to, aby przyczyny te usunąć przez działania korygujące i zapobiegawcze. Dlatego powinno się monitorować pojawiające się błędy /niezgodności i to nie tylko w laboratorium, lecz koniecznie w całym procesie diagnostycznym. Należy przy tym przestrzegać zasady, że monitorowanie nie służy do wykrywania „winnych osób” w celu ich ukarania, lecz do identyfikacji niesprawnych procedur, które należy udoskonalić.

Nasze doświadczenie ubiegłych 15 miesięcy wskazuje, że także w Polsce monitorowanie niezgodności /błędów w całości procesu diagnostycznego jest możliwe i realne. Inicjatywa monitorowania powinna wyjść od laboratorium, a w szpitalu najlepiej od dyrektora do spraw lecznictwa. Trudność polega na przekonaniu lekarzy i pielęgniarek w izbie przyjęć lub w ambulatorium, a także osób zajmujących się transportem próbek, że monitorowanie będzie anonimowe i że nie będzie prowadziło do represji w stosunku do osób, które popełniły błąd. Korzyści wynikające z monitorowania są tak oczywiste, że szybko pokonują opory, zwłaszcza wśród lekarzy. Można po prostu przedstawić fakty jako dowody na to, że problemy pojawiają się wszędzie i że trzeba wspólnie nad nimi radzić, wspólnie obmyślać procedury sprawniejsze od dotychczasowych, wspólnie szkolić całość personelu obsługującego proces diagnostyczny i wspólnie kontrolować (audytować) czy procedury są przestrzegane. W Polsce ruszyła w roku 2004 współpraca laboratoriów w dziedzinie monitorowania niezgodności w procesie diagnostycznym. W ciągu pierwszego roku tej kooperacji w 16 instytucjach biorących udział w monitorowaniu stwierdzono na około 5 milionów zleceń laboratoryjnych około 16 000 niezgodności lub błędów. Uczestnicy oceniają, że około 2000 stwierdzonych błędów potencjalnie mogło zagrażać życiu badanych pacjentów. Dalszych argumentów przemawiających za monitorowaniem procesu diagnostycznego chyba nie potrzeba. Koordynatorem tego projektu jestem ja i chętnie dostarczę każdemu zainteresowanemu opracowany przez nas katalog 85 dotychczas stwierdzonych niezgodności, o ile zgłosi się do mnie poprzez mój adres emailowy.

Co do danych o uczestnikach gwarantuję absolutną anonimowość, a odnośnie otrzymujących informacji o występujących niezgodnościach i błędach pełną dyskrecję.

Istnieje wiele problemów utrudniających wdrożenie systemów jakości w placówkach medycznych, w tym w laboratoriach diagnostyki medycznej, które wiążą się przede wszystkim z niedostateczną wiedzą na ten temat wśród personelu medycznego. Jak zatem wdrożyć w laboratorium diagnostyki medycznej skutecznie działający system, który będzie służył pacjentom i lekarzom?

Skuteczny system zarządzania jakością (SZJ) powinien objąć wszystkie elementy procesu diagnostycznego, ponieważ każdy etap (moduł operacyjny) tego procesu w istotny sposób może wpłynąć na jakość i niepewność wyniku badania, a tym samym także na jakość i niepewność diagnozy postawionej następnie przez lekarzy.

W szpitalu za całość procesu diagnostycznego odpowiada dyrektor do spraw lecznictwa; to on jest naturalnym szefem i koordynatorem tego procesu. W jego

imieniu któryś z lekarzy powinien być pełnomocnikiem do spraw zarządzania jakością (procesu). W sprawnym i skutecznym SZJ pełnomocnik powinien zadbać o to, aby we wszystkich komórkach procesu diagnostycznego (w tym m.in. przyjmujących pacjentów, zlecających badania, pobierających i transportujących materiał do badań otrzymujących wyniki laboratoryjne oraz w laboratorium):

a) opracowano skuteczne procedury i instrukcje, to znaczy takie działania, które osiągają wytyczone cele, i które spełniają mierzalne kryteria,
b) okresowo badano skuteczność i przestrzeganie tych procedur,
c) monitorowano występujące niezgodności / błędy, przy zachowaniu anonimowości osób, które te niezgodności zgłosiły,
d) aby przedstawiciele wszystkich komórek obsługujących proces diagnostyczny (Gremium Koordynacyjne) spotykali się okresowo (raz w miesiącu lub raz na kwartał) pod kierownictwem pełnomocnika dyrektora ds. lecznictwa, celem przeanalizowania:

- źródeł i przyczyn stwierdzonych niezgodności / błędów

- przydatności i skuteczności stosowanych

- procedur i instrukcji

- dotychczasowego sposobu i zakresu szkolenia personelu obsługującego proces diagnostyczny,

e) odbywały się szkolenia zalecane przez „Gremium Koordynacyjne” (patrz punkt d)

f) odbywały się okresowe audyty przeprowadzane przez zespół reprezentujący cały proces diagnostyczny (lekarz, pielęgniarka, przedstawiciel laboratorium). Logiczną konsekwencją zaleceń „Gremium Koordynacyjnego” powinny być okresowe spotkania kierowników wszystkich komórek obsługujących proces diagnostyczny pod egidą dyrektora ds. lecznictwa celem omówienia analiz i zaleceń „Gremium Koordynacyjnego” i podjęcia właściwych postanowień odnośnie doskonalenia procesu. Skuteczne wdrożenie SZJ zakłada, że biorący udział w jego planowaniu, tworzeniu i utrzymaniu będą rozumieli istotę tej nowoczesnej metody zarządzania, a to oznacza, że przeszkolą się chociażby na kilkudniowych kursach. Takie szkolenia prowadziłem od wielu lat razem z gronem wybitnych fachowców w Polskim Centrum Badań i Certyfikacji (PCBC) w Warszawie, zarówno dla kierowników i pełnomocników laboratoriów diagnostyki medycznej, jak i dla auditorów wewnętrznych takich laboratoriów. Szczególnie ważne są w związku z tym seminaria dla dyrektorów instytucji utrzymujących laboratoria, w tym szkolenia dla dyrektorów szpitali.

Dziękujemy za rozmowę.

Hanna Czeszko-Paprocka

Iwona Szkoł

INFORMACJA DLA PT DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH W SPRAWIE PIECZĄTKI

Uprzejmie informujemy, że wynik laboratoryjnego badania diagnostycznego jest wiarygodny dla pacjenta, lekarza oraz szczególnie dla NFZ, gdy zostaje autoryzowany przez diagnostę laboratoryjnego (*vide* uchwała nr 61/2004 KRDL z dnia 17 grudnia 2004 r.).

Diagnosta laboratoryjny autoryzuje wynik własnym podpisem oraz pieczęcią.

W związku z wieloma pytaniami, niejasnościami i wątpliwościami, a także w celu uporządkowania nabrzmiałego już problemu uprzejmie przypominamy, że diagnosta laboratoryjny posługuje się pieczęcią, której jednolity wzór został ustalony uchwałą nr 42/2003 KRDL z dnia 19 grudnia 2003 r. (*vide* nr 1(3) Gazety „DIAGNOSTA LABORATORYJNY” z marca 2004 r.). Treść pieczętki zatem powinna zawierać wyłącznie następujące zapisy:

1. prostopadle do treści pieczętki

• umieszczony z lewej strony, pięciocyfrowy nr wpisu na liście diagnostów laboratoryjnych (dwucyfrowy, trójcyfrowy, czterocyfrowy numer wpisu zawsze jest poprzedzony „zerem”, np. 000XX, 00XXX, 0XXXX),

2. pozioma treść pieczętki

• wiersz pierwszy:

tytuł zawodowy umieszczony przed imieniem (imionami) i nazwiskiem (np. mgr anal. med., mgr biol., mgr biotechnol., mgr chemii; mgr farm., mgr mikrobiol.; lek. med., lek. wet., dr n. ...; dr hab. n. ...; prof. dr hab. ... itp.),

• wiersz drugi posiada zapis drukowanymi literami

DIAGNOSTA LABORATORYJNY

• wiersz trzeci jest zarezerwowany dla osoby posiadającej specjalizację i tutaj może być podany tylko tytuł specjalizacji zgodny z posiadanym dyplomem. Osoby posiadające dyplom specjalizacji I° wpisują w skrócie np. specjal. I° z diagn. lab.; specjal. I° z anal. klin.; specjal. I° z toksykol.

Osoby posiadające dyplom specjalizacji II° wpisują np. specjalista diagn. lab.; specjalista anal. klin.; itp.

Zwracamy szczególną uwagę na fakt, że zapis S P E C J A L I S T A jest zarezerwowany dla osoby posiadającej wyłącznie specjalizację II° z danej dziedziny. Ponadto nie należy stosować jakichkolwiek wyróżników w postaci podkreślenia, czy ramek.

z poważaniem
Sekretarz KRDL
Czesław Główniak

**BADANIA LABORATORYJNE
WYKONYWANE PRZY ŁÓŻKU
PACJENTA.
PROBLEMY I KONTROWERSJE.**

Danuta Gaździk¹ i Dariusz Sitkiewicz²

¹Diagnostyka Sp. z o.o. Laboratorium w Instytucie Kardiologii.

²Zakład Biochemii Klinicznej, Instytut Kardiologii im. Prymasa Tysiąclecia Stefana Kardynała Wyszyńskiego - Warszawa.

Współczesna medycyna kliniczna stawia coraz to nowe wyzwania medycynie laboratoryjnej. Jednym z nich jest maksymalne skrócenie czasu oczekiwania na wyniki badań laboratoryjnych, od których zależy postępowanie z pacjentem. W przypadkach wykonywania testów w laboratorium czas od pobrania krwi do uzyskania wyniku tzw. TAT (ang. Turn Around Time) jest dość długi. Obejmuje on szereg etapów: transport próbki, wirowanie, analiza, walidacja i przekazanie raportu. W artykule pt. "Cito znaczy szybko" opublikowanym w ostatnim numerze „Diagnosty Laboratoryjnego” Pani prof. D. Bobilewicz pisze, że „czas wydania wyniku determinuje wartość kliniczną i możliwość jego wykorzystania”. Stwierdzenie to ma istotne znaczenie szczególnie w przypadku pacjentów izby przyjęć, oddziałów intensywnej opieki czy oddziałów pooperacyjnych. W tych przypadkach alternatywą dla badań wykonywanych w laboratorium szpitalnym mogą być badania przy łóżku pacjenta tzw. POCT (ang. Point Of Care Testing) umożliwiające skrócenie TAT do kilku - kilkunastu minut poprzez eliminację pewnych etapów procesu przed analitycznego (transport materiału, wirowanie).

Badania POCT wykonywane są w miejscu opieki i często w obecności pacjenta bezpośrednio przez lekarza lub pielęgniarkę, a więc osoby niezajmujące się na co dzień diagnostyką laboratoryjną. Do badań tych dedykowane są specjalne systemy pomiarowe spełniające następujące kryteria:

- krótki czas oczekiwania na wynik
- wykonanie analizy z próbki macierzystej
- łatwość obsługi i niezawodność działania
- wysoką jakość i stabilność odczynników
- możliwość współpracy z laboratoryjnym systemem informatycznym
- kompatybilność z metodami pomiarowymi stosowanymi w laboratorium.

Spełnienie tych kryteriów nie wyczerpuje jednak znamion dobrej praktyki klinicznej ani dobrej praktyki laboratoryjnej. Obok pierwszego, podstawowego pytania, w jakich przypadkach i dla jakich parametrów możliwa i uzasadniona jest diagnostyka point of care, nasuwają się inne równie istotne pytania: kto i jakim zakresie powinien odpowiadać za jakość wyniku, jak monitorować poprawność wykonywania procedur i jak wyeliminować zwiększone ryzyko błędów.

Próba odpowiedzi na pierwsze pytanie może być analiza porównawcza trybu oznaczania markerów sercowych (troponiny) i parametrów równowagi kwasowo-zasadowej. Transport materiału do laboratorium a także czynności przed analityczne nie wpływają na stabilność troponin a tym samym na jakość wyniku. Czas obejmujący preanalitkę i analizę w laboratorium wyposażonym w nowoczesne immunochemiczne systemy analityczne wynosi 30 do 35 minut. Spełnione są więc podstawowe wymagania dotyczące TAT (poniżej 1 godziny). Powszechnie przyjęte kryteria diagnostyczne zawału serca, zawarte w dokumentach ACC/ESC stawiają ostre wymagania precyzji oznaczeń sercowych troponin ($CV < 10\%$ na poziomie 99-percentyla populacji zdrowej). Dostępne aktualnie testy umożliwiające oznaczenie troponin w trybie POCT, które są testami jakościowymi nie spełniają tych kryteriów i nie mogą być traktowane jako diagnostyczne badania laboratoryjne. Wydaje się więc, że nie ma potrzeby i wręcz nie wskazany jest wprowadzanie tego trybu dla oznaczeń markerów sercowych w warunkach izby przyjęć czy oddziałów szpitalnych.

Zupełnie inną jest sytuacja dotycząca oznaczania parametrów równowagi kwasowo-zasadowej. W przypadku tych badań czas liczony w minutach ma zasadniczy wpływ zarówno na stan kliniczny pacjenta, jak i stabilność pobranej próbki. W pełni zasadnym jest więc wprowadzenie trybu point of care. Podstawą do prawidłowego funkcjonowania tego procesu jest ścisła współpraca i współodpowiedzialność personelu wykonującego te badania oraz diagnostów laboratoryjnych. Na takiej właśnie bazie zorganizowano został ten system przez Laboratorium Diagnostyka Sp. z o.o.

w Instytucie Kardiologii. Wprowadzenie tego systemu poprzedzone zostało szczegółową analizą obejmującą: ustalenie miejsc (oddziałów), w których te badania powinny być wykonywane, wybór analizatorów, konfigurację oznaczanych parametrów specyficzną dla poszczególnych oddziałów, wybór systemu do pobierania materiału.

Kolejnym etapem były cyklicznie powtarzane szkolenia personelu oddziałów dotyczące podstawowej obsługi aparatu, pobierania materiału, ze szczególnym naciskiem na możliwe błędy przed analityczne oraz w znacznie szerszym zakresie pracowników laboratorium. Ustalono harmonogram czynności i zakres odpowiedzialności dla obu grup pracowników. Po stronie pracowników oddziału jest wykonanie analizy i okresowa wymiana odczynników. Diagnosta laboratoryjny sprawuje bezpośredni nadzór techniczny nad aparatami i merytoryczny nad wynikami. Pracownik laboratorium wykonuje codzienną kalibrację, ocenia stan elektrod, membran, oraz monitoruje zużycie odczynników a przede wszystkim wykonuje kontrolę jakości badań. Przy każdym z aparatów znajduje się tzw. paszport zawierający instrukcję obsługi, harmonogram wykonywanych czynności, wyniki kontroli jakości wewnętrznej i międzynarodowej, raporty serwisowe. Aparaty są zintegrowane z laboratoryjnym systemem informatycznym i zarówno wyniki pacjentów, jak i wyniki kontroli jakości natychmiast po wykonaniu przesyłane są do laboratoryjnej bazy danych, do której ma dostęp uprawniony diagnosta laboratoryjny.

Wszystkie te czynności zapewniają komfort pracy i poczucie bezpieczeństwa osobom wykonującym oznaczenia i jednocześnie powodują, że otrzymywane wyniki są wiarygodne i mogą być podstawą istotnych decyzji klinicznych.

Przedstawiona organizacja badań POCT w dużym stopniu oparta o udział i odpowiedzialność diagnostów laboratoryjnych, zabezpiecza poprawność wykonania procedur, co w efekcie daje odpowiednią jakość badań, tak istotną w przypadkach pacjentów w stanach krytycznych. Tryb point of care spełni, więc swoje zadanie tylko tam, gdzie wszystkie składające się na niego etapy pozostaną pod kontrolą osób merytorycznie do tego przygotowanych.

Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych przypomina wszystkim Koleżankom i Kolegom Diagnostom Laboratoryjnym, że wszelkie oficjalne informacje dotyczące diagnostów laboratoryjnych i diagnostyki laboratoryjnej (między innymi wszystkie uchwały KRDL, ważne opinie Rady Prawnego KIDL, ważne akty prawne, ważne dla każdego informacje, także dotyczące składek członkowskich, itp.) są opublikowane w poszczególnych numerach Gazety KIDL "Diagnosta Laboratoryjny".

Gazeta jest bezpłatnie rozsyłana na adresy domowe do wszystkich PT Diagnostów Laboratoryjnych.

Zwracamy się z prośbą o wnikliwe zapoznawanie oraz posługiwanie się podanymi w gazecie informacjami. Z bezpośrednich rozmów telefonicznych, a także z korespondencji przesyłanej do biura KIDL drogą pocztową i elektroniczną wynika, że nie wykorzystujecie Państwo materiałów tam zawartych. Rodzi to - naszym zdaniem - niepotrzebne

długie telefoniczne i pisemne wyjaśnianie spraw, które nurtują PT Diagnostów, a są one już powszechnie dostępne oraz opublikowane na łamach gazety, biuletynu, czy też na naszych stronach internetowych. Sytuacja taka powoduje również i to, że ponosicie Państwo niepotrzebne koszty związane z rozmowami telefonicznymi i innymi formami kontaktu.

KIDL jest zawsze do dyspozycji Państwa i zawsze służymy wszelką pomocą, również w sprawach innych niż już opublikowane i podane do publicznej wiadomości w różnych formach medialnych.

Przesyłając korespondencję do biura KIDL prosimy zawsze o posługiwanie się numerem wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych oraz podawanie aktualnego adresu do korespondencji, a także co jest oczywiste - swoich danych osobowych.

*Z poważaniem
Sekretarz KRDL
Czesław Główniak*

W związku z wypisywaniem dokumentu "Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego", po raz kolejny apelujemy do wszystkich Państwa posiadających:

- **stopnie naukowe** (doktora, doktora habilitowanego, profesora nadzwyczajnego, profesora zwyczajnego),

- **stopnie specjalizacji** w danej dziedzinie i zakresie (I stopnia, II stopnia), aby w trybie bardzo pilnym przesyłali do biura KIDL brakujące kserokopie wymienionych dokumentów potwierdzonych za zgodność odpisu z oryginałem.

W przypadku niedopełnienia przez Szanownych PT Diagnostów Laboratoryjnych powinności określonych w uchwale nr 14/2003 KRDL z dnia 13 marca 2003 r. - ewentualne zmiany w dokumencie "Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego" związane będą z dodatkowymi kosztami i, które poniosą osoby zainteresowane.

*Sekretarz KRDL
Czesław Główniak*

KOMUNIKAT

Przypominamy Państwu o powinności ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej diagnosty laboratoryjnego.

KIDL działając dla ochrony interesów zawodowych swoich członków zawarła umowę ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej dla diagnostów laboratoryjnych. Umowa weszła w życie 01.10.2004r.

Poniżej przypominamy zasady w oparciu, o które ubezpieczenie odpowiedzialności cywilnej funkcjonuje:

-Ubezpieczonym może być tylko diagnosta laboratoryjny wpisany na listę członków KIDL.

-Składkę na ubezpieczenie wynosi 3 PLN miesięcznie od osoby.

- Składkę na ubezpieczenie należy opłacić na rachunek KIDL do końca miesiąca, za który jest dokonywana płatność (np. jeżeli diagnosta chce być ubezpieczony w marcu, składkę powinien opłacić w marcu),

- W sytuacji, gdy diagnosta dokona płatności składki z dołu (np. w sierpniu zapłaci za wrzesień) opłacona składka jest przypisywana do miesiąca, w którym faktycznie została opłacona (czyli, jeżeli płatność nastąpiła w sierpniu za wrzesień, to jest ona traktowana jako płatność za sierpień),

- W przypadku osób, które wpłacają kwoty na składkę ubezpieczeniową wyższe niż 3 PLN, wpłaty te są traktowane jako opłata składki za miesiąc, w którym następuje płatność i kolejne miesiące, w liczbie wynikającej z wysokości wpłaconej składki (np. w sierpniu diagnosta wpłaca na ubezpieczenie 27 PLN, jest to składka za sierpień i kolejne 8 miesięcy).

- W sytuacji, gdy diagnosta w danym miesiącu nie wpłaci składki na ubezpieczenie traci ochronę ubezpieczeniową w miesiącu, na który przypada niezapłacona składka (np. diagnosta opłacił składkę w sierpniu, wrześniu, a w październiku nie zapłacił, to oznacza, że ubezpieczony jest tylko w sierpniu i we wrześniu). Jeżeli składka zostanie opłacona w kolejnym miesiącu, diagnoście przysługuje ochrona ubezpieczeniowa od pierwszego dnia miesiąca, za który została opłacona składka (np. diagnosta opłacił składkę w sierpniu, we wrześniu, w październiku nie zapłacił, a w listopadzie zapłacił, to oznacza, że jest ubezpieczony w sierpniu, wrześniu i listopadzie).

Podstawą ubezpieczenia jest umowa generalna TOUG002/2004 wraz z aneksem nr 2 z dnia 03.03.2005r.

Zasady opłacania składki na ubezpieczenie reguluje Uchwała Nr 63/2004 KRDL dotycząca załącznika do uchwały nr 54/2004 w sprawie realizacji punktu 4 programu załącznika do uchwały nr 19/2002 I Krajowego Zjazdu Diagnostów Laboratoryjnych dotyczącego ubezpieczenia diagnostów laboratoryjnych.

Powyższe dokumenty są dostępne w szczególności na stronie internetowej www.kidl.org.pl Informacji na temat ubezpieczeń odpowiedzialności cywilnej dla diagnostów laboratoryjnych, osób wykonujących czynności diagnostyki laboratoryjnej oraz laboratoriów udzielają:

Maria Żurawska - (0-56) 669 32 40 e-mail: maria.zurawska@mentor.torun.pl

Rafał Sobczak - (0-56) 669 33 41 e-mail: rafal.sobczak@mentor.torun.pl

WAŻNA INFORMACJA DOTYCZĄCA PRAWA WYKONYWANIA ZAWODU DIAGNOSTY LABORATORYJNEGO

Biuro Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych uprzejmie informuje, że sukcesywnie wydawany jest dokument **“Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego”**.

Dotychczas posiadane przez PT Diagnostów Laboratoryjnych "Zaświadczenie" o wpisie na listę diagnostów laboratoryjnych jest ważne do 31 grudnia 2006 roku.

PRZYPOMNIENIE:

Chcąc otrzymać dokument **“Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego” należy:**

- ◆ **wpłacić 100 zł.** na konto KIDL zgodnie z uchwałą nr 60/2004 KRDL z dnia 17 grudnia 2004 r., tytułem **“Wpłata na rzecz KIDL na działalność statutową”**,
- ◆ **przesłać do biura KIDL** kserokopię dowodu wpłaty z dołączoną czytelną informacją zawierającą w/w tytuł wpłaty, imię i nazwisko oraz numer wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych,
- ◆ **przesłać także zaświadczenie lekarskie** o stanie zdrowia stwierdzające zdolność do wykonywania czynności diagnosty laboratoryjnego zgodnie z art. 9 ust. 1 pkt. 4 ustawy o diagnostyce laboratoryjnej.

W **styczniu, lutym i marcu 2006 r.** **“Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego”** wystawimy osobom, które posiadają numer wpisu na listę diagnostów **od 03001 do 04500**. Stąd PT Diagnostów Laboratoryjnych posiadający wymienione numery wpisu **proszone są o dokonanie w/w wpłaty, przysłania jej kserokopii oraz uzupełnienie ewentualnych braków w dokumentacji do końca lutego 2006 r.**

O terminach wydawania dokumentu **“Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego”** dla diagnostów laboratoryjnych posiadających dalsze numery wpisu (powyżej 04500) - będziemy powiadamiać w następnych numerach Gazety KIDL **“Diagnosta Laboratoryjny”** oraz na naszej stronie internetowej (www.kidl.org.pl - w zakładce **“Aktualności”**).

UWAGA:

Dokument **“Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego”** jest wysyłany, listem poleconym za zwrotnym potwierdzeniem odbioru, na adres znajdujący się w dokumentacji KIDL lub zaktualizowany adres do korespondencji.

PROSIMY ZATEM O PILNE AKTUALIZOWANIE EWENTUALNIE ZMIENIONYCH ADRESÓW ZAMIESZKANIA LUB DO KORESPONDENCJI.

W przypadku nieodebrania listu poleconego i zwrotu przesyłki przez pocztę do biura KIDL - powtórne przesłanie dokumentu będzie możliwe na pisemną prośbę i za dodatkową opłatą poniesionych kosztów ponownego wysłania do tych z Państwa, których dotyczyć będzie nie doręczenie w/w przesyłki.

Zwracamy również uwagę, że dokument **“Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego” nie zostanie wystawiony i nie będzie wysłany** tym diagnostom laboratoryjnym, którzy:

- ◆ posiadają braki w dokumentacji,
- ◆ zalegają z płatnością obowiązkowych składek członkowskich,
- ◆ dotąd przesłali swoje zdjęcia w innym formacie niż 3,5 cm x 4,5 cm, gdyż po zmniejszeniu tych zdjęć do wymaganego formatu okazuje się, że twarz na zdjęciu jest nieczytelna.

W przypadku dostarczenia przez diagnostę wraz z dokumentami nieaktualnych zdjęć (np. sprzed kilkunastu lat), KIDL nie będzie ponosić odpowiedzialności za wynikłe z tego powodu problemy lub konsekwencje.

WYDANIE NOWEGO DOKUMENTU Z NOWYM ZDJĘCIEM BĘDZIE MOŻLIWE NA PISEMNĄ PROŚBĘ I DODATKOWY KOSZT OSOBY ZAINTERESOWANEJ.

Komunikat
Dyrektora Centrum Medycznego
Kształcenia Podyplomowego
w sprawie ostatecznego terminu
uzyskiwania specjalizacji I stopnia lub
tytułu specjalisty drugiego stopnia
przez lekarzy, lekarzy dentystów
i diagnostów laboratoryjnych.

I. Na podstawie art. 6 ustawy z dnia 29 lipca 2005r. o zmianie ustawy o zawodach pielęgniarstwa i położnej oraz ustawy o zawodach lekarza i lekarza dentysty, ogłoszonej w Dzienniku Ustaw Nr 175, poz.1461 z dnia 12 września 2005r. - lekarz i lekarz dentysta może uzyskać specjalizację pierwszego stopnia lub tytuł specjalisty drugiego stopnia nie później niż w terminie dwóch lat od dnia wejścia w życie niniejszej ustawy. W związku z powyższym dla lekarzy i lekarzy dentystów, którzy przystąpili do specjalizacji na podstawie zarządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 1 lutego 1983r. w sprawie specjalizacji lekarzy, lekarzy dentystów, magistrów farmacji oraz innych osób z wyższym wykształceniem zatrudnionych w służbie zdrowia i opiece społecznej (Dz. Urz. MZiOŚ Nr 3, poz.19 z późn. zm.) - ostatni egzamin na I i II stopień specjalizacji w danej specjalności zostanie zorganizowany w wiosennej sesji egzaminacyjnej 2007 r.

II. Na podstawie § 36 ust. 2 i § 37 ust. 2 rozporządzenia z dnia 16 kwietnia 2004r. w sprawie specjalizacji i uzyskiwania tytułu specjalisty przez diagnostów laboratoryjnych (Dz. U. Nr 126, poz. 1319) - diagnosta laboratoryjny, który rozpoczął specjalizację I lub II stopnia przed wejściem w życie rozporządzenia, składa egzamin na I lub II stopień specjalizacji w terminie nie dłuższym niż do dnia 31 grudnia 2009 r.

W związku z powyższym dla diagnostów laboratoryjnych, którzy przystąpili do specjalizacji na podstawie zarządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 1 lutego 1983r. w sprawie specjalizacji lekarzy, lekarzy dentystów, magistrów farmacji oraz innych osób z wyższym wykształceniem zatrudnionych w służbie zdrowia i opiece społecznej (Dz. Urz. MZiOŚ Nr 3, poz.19 z późn. zm.) - **ostatni egzamin na I i II stopień specjalizacji w danej specjalności zostanie zorganizowany w jesiennej sesji egzaminacyjnej 2009 r.**

Dyrektor
 Centrum Medycznego
 Kształcenia Podyplomowego
 /-/ Prof. dr hab. Jadwiga Słowińska -
 Śrzednicka
 Warszawa, dnia 14 października 2005 r.

INFORMACJA PRZYPOMINAJĄCA DLA PT DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH W SPRAWIE ZMNIEJSZENIA LUB ZAWIESZENIA SKŁADEK CZŁONKOWSKICH!

Uprzejmie informuję, że w dniu 17 grudnia 2004 r. na X Posiedzeniu KRDL, została podjęta znowelizowana i ujednolicona w jednym dokumencie oraz odpowiadająca potrzebom PT Diagnostów, uchwała nr 62/2004 KRDL w sprawie zawieszenia obowiązku płatności składek członkowskiej na rzecz Korporacji lub zmniejszenia jej wysokości.

ZAWIESZENIE płatności składek w myśl w/w Uchwały dotyczy tych z Państwa, którzy:

- utracili pracę (paragraf 1 ust. 1),
 - pozostają na urlopie wychowawczym nie wykonując czynności na podstawie umowy o pracę lub umowy cywilnoprawnej (paragraf 1 ust. 2),
 - wykonują czynności diagnostyki laboratoryjnej w ramach wolontariatu bez pobierania wynagrodzenia (paragraf 1 ust. 3),
- ZMNIEJSZENIE wysokości składek członkowskich o 50% dotyczy natomiast osób, którzy na mocy decyzji ZUS uzyskali prawo do emerytury, świadczeń przedemerytalnych lub renty (w tym inwalidzkiej) - (paragraf 2).

Decyzje w sprawach wymienionych w paragrafie 1, ust. 1, 2 i 3 oraz w paragrafie 2 przedmiotowej uchwały KRDL podejmuje Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych na pisemny wniosek zainteresowanych diagnostów.

Dotychczasowe Uchwały nr 21/2003, 28/2003 i 32/2003 tracą swoją moc prawną. Zainteresowane osoby powinny przysłać do Biura KIDL pisemne wnioski wraz z właściwymi dokumentami (np.: decyzja PUP, zaświadczenie o urlopie wychowawczym, umowa wolontariatu, decyzja ZUS w sprawach emerytalno - rentowych).

KOMUNIKAT

dot. opłacania składek członkowskich przez PT Diagnostów Laboratoryjnych, będących członkami innych samorządów zawodowych

W związku z licznymi pytaniami i wątpliwościami wyjaśniamy, że PT Diagnostów Laboratoryjnych - członkowie KIDL, będący jednocześnie członkami innych samorządów zawodowych (np. lekarskich, aptekarskich itp.) opłacają obligatoryjne składki członkowskie w wysokości 15.00 zł miesięcznie, zgodnie z uchwałami KRDL (vide: uchwała nr 2/2003 KRDL z dnia 13 stycznia 2003 r. Członkostwo w innych samorządach zawodowych nie zwalnia z obowiązku

opłacania składek w KIDL.

Uwaga!!!

Wszystkim osobom przysyłającym do Biura KIDL kserokopie dokumentów zwracamy uprzejmie uwagę, aby kserokopie te były potwierdzone za zgodność z oryginałem, przy czym kopie dokumentów można potwierdzać np.: w kadrach zakładu pracy lub u Przedstawiciela KRDL na dane województwo, względnie - odpłatnie - u notariusza. Potwierdzenie zgodności danego dokumentu z oryginałem musi być zaopatrzone w pieczęć instytucji, datę i nazwisko osoby aprobującej.

Prosimy uprzejmie, tych z Państwa, którzy w ostatnim czasie:

- którzy w ostatnim czasie uzyskali specjalizację,
 - zmienili adres zamieszkania,
 - zmienili dowód osobisty,
 - zmienili zakład pracy,
 - zmienili stan cywilny,
- aby w trybie pilnym przesłać do biura KIDL kserokopie (potwierdzone za zgodność odpisu z oryginałem), w/w dokumentów, zgodnie z art. 8 ust. 3 ustawy z dnia 27 lipca 2001 r. o diagnostyce laboratoryjnej (tekst jednolity: Dz. U. 2004.144.1529).

Sekretarz KRDL - Czesław Główniak

Choroba von Willebranda - klasyfikacja i diagnostyka

¹Bykowska K., ²Misiak A

z ¹Pracowni Diagnostyki Choroby von Willebranda Zakładu Hemostazy i Zakrzepic i z ²Kliniki Chirurgii Ogólnej i Hematologicznej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Choroba von Willebranda (vWD) jest to wrodzona skaza krwotoczna, dziedziczona w sposób autosomalny, przejawiająca się krwawieniami z błon śluzowych, po ekstrakcji zębów, wybroczynami, przedłużonym czas krwawienia po zranieniach, a u kobiet przedłużonymi i obfitymi krwawieniami miesięcznymi. W postaci ciężkiej vWD podobnie jak w hemofilii mogą występować wylewy do stawów i mięśni. Podłożem molekularnym choroby vWD jest defekt/niedobór osoczowej glikoproteiny nazwanej czynnikiem von Willebranda (vWF).

Choroba von Willebranda występuje 1,5- 2 razy częściej niż hemofilia. Jak wykazały badania epidemiologiczne skaza krwotoczna pojawia się u 125 osób na milion ogólnej populacji. Dane te są jednak znacznie zaniżone, gdyż choroba vWD występuje często bezobjawowo lub jest nierozpoznana. U bezobjawowych nosicieli defektu vWF, skaza krwotoczna może ujawnić się po przypadkowych zranieniach lub zabiegach chirurgicznych. Ocenia się, że defekt vWF wykrywany laboratoryjnie, pojawia się aż u 1% ogólnej populacji a więc stosunkowo często.

HISTORIA ODKRYCIA

Po raz pierwszy choroba von Willebranda została opisana w roku 1926, przez Erica von Willebranda (44) u pięcioletniej finki pochodzącej z miejscowości Föglö na wyspach Alandzkich, położonych na Bałtyku pomiędzy Szwecją a Finlandią. Dziewczynka pochodziła z licznej, wielopokoleniowej rodziny, której członkowie chorowali na dotychczas nieznaną szkodliwą chorobę krwi, charakteryzującą się w przeciwieństwie do hemofilii przedłużonym czasem krwawienia i dziedziczeniem autosomalnym. Początkowo uważano, że za wystąpienie vWD odpowiedzialne jest brak czynnika antyhemofilowego (AHG). (1). Milowym krokiem w historii vWD było uzyskanie w latach 70 oczyszczonego preparatu vWF, charakterystyka jego struktury białkowej i wykazanie, że czynnik antyhemofilowy jest kompleksem dwóch białek vWF (niedobór powoduje hemofilię A) (33). W roku 1991 (22) opisano po raz pierwszy strukturę genu vWF. W roku 1992 wykazano, że przyczyną choroby jest brak czynnika antyhemofilowego (AHG). (1). Milowym krokiem w historii vWD było uzyskanie w latach 70 oczyszczonego preparatu vWF, charakterystyka jego struktury białkowej i wykazanie, że czynnik antyhemofilowy jest kompleksem dwóch białek vWF (niedobór powoduje hemofilię A) (33). W roku 1991 (22) opisano po raz pierwszy strukturę genu vWF. W roku 1992 wykazano, że przyczyną choroby jest brak czynnika antyhemofilowego (AHG). (1).

Ze względu na podobieństwo do hemofilii początkowo chorobę von Willebranda nazywano pseudohemofilią lub angiohemofilią potem przez krótki okres czasu chorobą Jürgensa-Willebranda a na koniec od nazwiska jej odkrywcy chorobą von Willebranda (vWD), a czynnik odpowiedzialny za wystąpienie choroby czynnikiem von Willebranda (vWF).

CZNNIK VON WILLEBRANDA

Synteza i struktura. Czynnik von Willebranda (vWF) jest adhezyjną glikoproteiną, syntetyzowaną w komórkach śródbłonnka i megakariocytach pod kontrolą genu znajdującego się na końcu krótkiego ramienia chromosomu 12 (22). Gen ma długość 178 kb i zawiera 52 eksony. Dodatkowo na chromosomie 22 występuje pseudogen o strukturze odpowiadającej eksonom 23-34 genu vWF. Prekursorowa cząsteczka vWF jest zbudowana z 2813 aminokwasów w tym od N-końca peptydu sygnałowego (22 aminokwasy), regulującego transport do retikulum endoplazmatycznego, następnie propolipeptydu (741 aminokwasów) sterującego procesem multimerizacji i wreszcie monomeru stanowiącego podstawową podjednostkę vWF (2050 aminokwasów) (rycina 1). Monomer jest zbudowany z wielu domen

(A,B,C i D) w których znajdują się miejsca o znaczeniu biologicznym (36). I tak obszar A1 jest odpowiedzialny za wiązanie do GPIIb płytek krwi (adhezja) i kolagenu; A3 do kolagenu; D' i D3 do czynnika VIII; C1 do GPIIb/IIIa płytek krwi (agregacja) (33).

Obecne w krążeniu multimetry są zbudowane od co najmniej dwóch monomerów tworzących dimer o m.c. 500 KD aż do 40 dimerów. Dimery powstają w retikulum endoplazmatycznym, natomiast multimetry w aparacie Golgiego. Część syntetyzowanego vWF jest magazynowana w ciałkach Weibela-Palade komórek śródbłonnka i ziarnistościach α płytek krwi, skąd może on być uwalniany po stymulacji pod wpływem różnych czynników w tym trombiny czy desmopresyny; część natomiast jest uwalniana w sposób ciągły do krwi. W mikroskopie elektronowym czynnik von Willebranda ma postać włókien o średnicy 2-3 nm na 1300 nm lub kulistych cząsteczek o średnicy 2 do 300 nm (13). Czynnik von Willebranda magazynowany w komórkach śródbłonnka i megakariocytach ma ciężar cząsteczkowy znacznie większy niż obecny we krwi ludzi zdrowych (UvWF, ultralarge vWF > 20 000 kDa) i wykazuje silne działanie prozakrzepowe (47). W warunkach fizjologicznych po uwalnieniu z komórek śródbłonnka UvWF wiąże się na powierzchni śródbłonnka z receptorem i ulega proteolitycznej modyfikacji pod wpływem trombospondyny i metaloproteazy ADAMST13 (45, 46) do multimerów o masie cząsteczkowej (500 do 20 000 kDa). Obecność multimerów o różnej masie cząsteczkowej jest ważnym kryterium diagnostycznym.

Funkcja biologiczna. W mechanizmie hemostazy cz vWF odgrywa dwie bardzo ważne funkcje. Jedną - to udział w adhezji płytek krwi (rycina 2) do podśródbłonkowego kolagenu w uszkodzonym naczyniu o szybkim przepływie krwi (zwiększone tętno, drobne naczynia krwionośne o wysokim module ścinania). Drugą natomiast to udział w procesie krzepnięcia krwi (rycina 3). Adhezja płytek krwi odbywa się jedynie z udziałem wysokocząsteczkowych multimerów vWF. Jeżeli we krwi brak jest wysokocząsteczkowych multimerów vWF, aktywność vWF wyrażana jako vWF:RCO (aktywność adhezyjna) i vWF:CB (zdolność do wiązania kolagenu) są obniżone. W naczyniach o wysokim module ścinania żadne inne białko adhezyjne takie jak fibrynogen, fibronektyna, trombospondyna, kolagen czy laminina nie mogą zastąpić cz vWF. W procesie adhezji czynnik vWF wiąże się przez domenę A3 z podśródbłonkowym kolagenem uszko-

dzzonego naczynia, w wyniku czego dochodzi do rozkładu struktury vWF i odsłonięcia domeny A1, a następnie związania poprzez domenę A1 z łańcuchem GPIIb receptora GPIIb-IX-V znajdującego się na powierzchni płytek krwi. Adhezja płytek krwi z udziałem czynnika vWF prowadzi do ich aktywacji i agregacji. W procesie agregacji czynnik vWF tworzy mostki pomiędzy glikoproteinami GPIIb/IIIa sąsiadujących płytek i sekwencją RGD (Arg-Gly-Asp) znajdującą się w domenie C1 vWF. W średnich i dużych naczyniach (o wolnym przepływie) płytki krwi przylegają do struktur podśródbłonkowych bez udziału czynnika von Willebranda. Udział cz.vWF w krzepnięciu krwi. Drugą ważną funkcją vWF jest stabilizowanie czynnika VIII. We krwi czynnik von Willebranda tworzy kompleks z czynnikiem VIII układu krzepnięcia krwi poprzez domeny D'/D3. Tworzenie tego kompleksu (1 cząsteczka cz VIII : 50-100 monomerów vWF) chroni czynnik VIII przed proteolityczną degradacją i utratą aktywności prokoagulacyjnej. Rozkład kompleksu i aktywacja cz VIII zachodzi w momencie uszkodzenia ściany naczyniowej i powstania śladowych ilości trombiny. Trombina odtrawia polipeptyd od N-końca łańcucha lekkiego cz VIII zawierający miejsce wiązania czynnika von Willebranda. Uwolniony cz VIII wiąże się z ujemnie naładowanymi powierzchniami poprzez odsłonięte w ten sposób miejsce receptorowe i bierze udział w krzepnięciu krwi. U chorych z niedoborem cz vWF wtórnie występuje niedobór cz VIII spowodowany skróconym czasem przeżycia tego białka we krwi. W obecności vWF czas przeżycia VIII:C wynosi 8-12 godzin natomiast przy całkowitym braku vWF zaledwie 1-3 godz (31, 43). Stężenie vWF w osoczu ludzi zdrowych wynosi od 40 do 240 j/dl-1.

KLASYFIKACJA

Choroba von Willebranda jest bardzo heterogenna zarówno pod względem genetycznym, jak i klinicznym (5). Wśród członków tej samej rodziny obraz kliniczny choroby może się znacznie różnić mimo podobnego lub wręcz identycznego defektu laboratoryjnego. U chorych z łagodną vWD, choroba często pozostaje nie wykryta lub jest nieprawidłowo zdiagnozowana. Do roku 1994 rozróżniano około 20 podtypów tej choroby krwotocznej. W roku 1994 Sadler (39) wprowadził uproszczoną klasyfikację choroby von Willebranda przyjętą przez Międzynarodowy Komitet do Spraw Zakrzepów i Hemostazy. Klasyfikacja ta wyróżnia trzy

główne typy i cztery podtypy typu 2 choroby von Willebranda (tabela 1). W typie 1 i 3 występuje defekt ilościowy, w typie 2 jakościowy. Typ 1 występuje u ponad 70% chorych z vWD; typ 2A i 2B u 10-15%, 2Mi i 2N bardzo rzadko; typ 3 u 1-5 osób na milion. Różnicowanie typów opiera się na analizie obrazu klinicznego, wywiadzie rodzinnym i analizie laboratoryjnej (9, 12, 21)). Analiza laboratoryjna obejmuje ocenę stężenia antygeny (vWF:Ag); analizie struktury multimerycznej aWF; aktywności biologicznej vWF i aktywności cz VIII (VIII:C). Aktywność biologiczna vWF jest wyrażana przez: a/ zdolność do adhezji płytek krwi (kofaktor ristocetyny, WF:RCo) i b/ zdolność do wiązania kolagenu (vWF:CB); c/ aglutynację płytek krwi pod wpływem niskich stężeń ristocetyny (RIPA).]

CHARAKTERYSTYKA TYPÓW vWD
Choroba vWD typu 1 skaza krwotoczna jest łagodna lub umiarkowana a stężenia. vWF:RCo, vWF:Ag i VIII:C są proporcjonalnie obniżone (38). U kobiet łagodna postać choroby von Willebranda jest silniej manifestowana klinicznie i charakteryzuje się przedłużonymi i bardzo obfitymi krwawieniami miesięcznymi (16). Krwawienia poporodowe występują rzadko, ponieważ stężenie FVIII/vWF wzrasta pod koniec ciąży do poziomów prawidłowych. Obserwowana u chorych z typem 1 heterogenność fenotypowa może być spowodowana dużym rozrzutem wartości vWF:RCo (15-50%) i właściwościami płytkowego vWF (7). Przyjmując jako kryterium obecność vWF w płytkach krwi, typ 1 można podzielić na trzy podgrupy; 1 - z prawidłowym stężeniem vWF o prawidłowej strukturze cząsteczki; 2 - o niskim stężeniu vWF i prawidłowej cząsteczce oraz 3 - charakteryzującą się niskim stężeniem i niską aktywnością vWF (19, 23, 42). U osób z obniżoną aktywnością vWF w płytkach krwi niskie jest także stężenie vWF w komórkach śródbłonnka i większa niż w pozostałych grupach tendencja do krwawień (10).

Typ 2A charakteryzuje się upośledzoną adhezją płytek krwi do kolagenu, brakiem we krwi dużych i pośrednich multimerów oraz prawidłowym lub obniżonym vWF:RCo i vWF:Ag. Niedobór wielko-
cząsteczkowych i pośrednich multimerów odpowiedzialny za obniżenie aktywności vWF:RCo może być spowodowany mutacją w obszarze A2 (u 1/3 chorych jest wykrywana mutacja Arg834Trp) powodująca, że:

albo 1/ że największe multimetry, zawierające zmutowane podjednostki są zatrzymywane w retikulum endoplazmatycznym, a do krwi są uwalniane jedynie

mniejsze, prawidłowe;

albo 2/ że wielko-
cząsteczkowe, zawierające mutacje multimetru po uwolnieniu do krwi ulegają nadmiernej proteolizie przez osoczną metaloproteazę (15, 20).

Typ 2B dziedziczy się autosomalnie dominująco choć opisano przypadki dziedziczenia recesywnego (26). U chorych może występować łagodna trombocytopenia, większe płytki oraz przedłużony czas krwawienia. Trombocytopenia może się nasilać podczas ciąży (32, 35). W testach laboratoryjnych obserwuje się zwiększoną aglutynację pod wpływem ristocetyny (RIPA) i brak w osoczu wysoko-
cząsteczkowych multimerów (37). Struktura multimeryczna płytkowego i śródbłonkowego vWF jest w tym typie prawidłowa (12, 30).

Niedobór wielko-
cząsteczkowych multimerów we krwi ma inne podłoże molekularne niż w typie 2A. W typie 2B zazwyczaj mutacja w regionie A1 powoduje zwiększenie powinowactwa vWF do receptora płytkowego GPIIb w wyniku czego czynnik vWF spontanicznie wiąże się z tym receptorem i w kompleksie z płytkami jest usuwany z krążenia (6, 34). Podłożem typu 2M są najczęściej mutacje w obszarze A1 vWF, odpowiedzialnym za reakcję z kolagenem. U chorych upośledzona jest adhezja płytek, obniżony jest vWF:RCo, vWF:Ag i VIII:C prawidłowy/obniżony i prawidłowy/upośledzony RIPA i w przeciwieństwie do typu 2A prawidłowy rozkład multimerów. Wyjątkiem w typie 2M jest wariant Vicenza charakteryzujący się niskim stężeniem antygeny i większymi niż normalnie multimerami zbliżonymi wielkością do vWF płytkowego i śródbłonkowego.

Typ 2N jest wynikiem mutacji w N-końcu cząsteczki vWF, w obszarze wiązania z czynnikiem VIII w wyniku czego zmniejsza się powinowactwo vWF i VIII:C i skracają się czas przeżycia cz VIII:C we krwi. Badania laboratoryjne wykazują prawidłowe lub nieznacznie obniżone vWF:RCo i vWF:Ag i nieproporcjonalnie niskie stężenia VIII:C (30, 26, 45, 46). Fenotypowo typ 2N jest często trudny do odróżnienia od łagodnej lub umiarkowanej hemofilii A.

W typie 3, ciężkim, obraz kliniczny przypomina hemofilie a dziedziczenie jest autosomalne recesywne. Typ 3 vWD jest stosunkowo łatwy do rozpoznania u chorych występuje ciężka skaza krwotoczna, stężenie vWF i cz VIII jest bardzo niskie lub nieoznaczalne. Podobnie jak w hemofilii u chorych występują wylewy do stawów i mięśni. U 5-8% chorych leczonych koncentratami cz VIII/vWF pojawiają się

alloprzeciwciała (4, 11, 24, 27, 22, 33 40).

Oprócz wrodzonej, uwarunkowanej genetycznie vWD, może także występować nabyta choroba vWD (Acquired von Willebrand Syndrome, AvWS). AvWS pojawia się zazwyczaj w późnym wieku, skaza krwotoczna nie występuje u innych członków rodziny. Obraz kliniczny i laboratoryjny AvWS jest podobny jak w typie 1 lub 2 vWD. Skaza krwotoczna jest zazwyczaj spowodowana pojawieniem się przeciwciał, adsorpcją na komórkach nowotworowych lub proteolityczną degradacją. AvWS towarzyszy najczęściej chorobom limfoproliferacyjnym, mielodysplastycznym, nowotworowym, immunologicznym a także cukrzycy czy niedoczynności tarczycy. Może pojawiać się także po leczeniu niektórymi antybiotykami (np. griseofulwiną, ciprofloksacyną), lekami przeciwdrgawkowymi (kwasem walproinowym) czy hydroksymetylowaną skrobią.

Zwiększone powinowactwo płytek krwi i vWF występuje nie tylko w vWD typu 2B ale także w chorobie pseudo von Willebranda. Różnica jednak polega na tym, że o ile w typie 2B vWD defekt adhezji jest spowodowany defektem cząsteczki vWF to w chorobie pseudo vWD defektem płytek krwi (30). Klinicznie i laboratoryjnie choroba pseudo von Willebranda podobnie jak w typie 2BvWD charakteryzuje się łagodną małopłytkowością, brakiem w osoczu wielko-
cząsteczkowych multimerów, wydłużonym czasem krwawienia, w różnym stopniu obniżoną aktywnością vWF i VIII:C i zwiększoną aglutynacją płytek przy niskich stężeniach ristocetyny (RIPA). Typ 2B różnicuje się od choroby pseudo von Willebranda wykonując agregację płytek krwi w obecności oczyszczonego vWF bez dodania ristocetyny.

DIAGNOSTYKA LABORATORYJNA
Występowanie choroby von Willebranda można podejrzewać u chorych z wywiadem krwawień z błon śluzowych, po ekstrakcji zębów, pooperacyjnych, szczególnie wówczas gdy wywiad rodzinny sugeruje autosomalne dziedziczenie defektu. Należy pamiętać, że u osób z tej samej rodziny z tym samym defektem laboratoryjnym nasilenie skazy może być różne, a u kobiet jedynym przejawem choroby mogą być obfite i przedłużone krwawienia miesięczne. Przystępując do badań laboratoryjnych należy pamiętać o heterogenności vWD i fizjologicznej zmienności stężeń czynnika vWF w zależności od czynników genetycznych i środowiskowych. Stężenie czynnika von Willebranda w około 30% zależy od grupy krwi. U osób grupy krwi 0 średni poziom vWF jest o około 25-30%

niższy niż u osób z grupa krwi A lub B. Ponieważ dolna granica normy w grupie 0 odpowiada postaci łagodnej vWD (15-50%) stąd trudno niekiedy na podstawie badań laboratoryjnych zdecydować czy mamy do czynienia z osobą chorą czy zdrową (14). U osób grupy 0 zaleca się przyjmowanie jako wartość normy wynik średni dla danej populacji pomniejszony o dwa odchylenia standardowe (2SD). Stężenie vWF we krwi zmienia się z wiekiem. U noworodków początkowo wynosi 153 ± 67 IU/dl-1 (1 dzień), potem stopniowo spada i po 180 dniach osiąga wartość 107 ± 45 IU/dl-1 (40). Takie różnice w stężeniu vWF powodują, że do 7 miesiąca życia vWD jest trudna do zdiagnozowania. Po 40 roku życia stężenie vWF wzrasta o około 10 IU/dl-1 na dekadę, stąd u osób starszych przebieg vWD jest łagodniejszy (2, 17). Stężenie vWF zmienia się także podczas cyklu menstruacyjnego (30, 28), wzrasta podczas ciąży (najwięcej w trzecim trymestrze) u kobiet zdrowych i u większości lecz nie wszystkich z vWD typu 1, nie wzrasta z typem 3 i w różnym stopniu w typie 2 (3, 18). Wzrasta także pod wpływem doustnych środków antykoncepcyjnych, leczenia hormonalnego, po wysiłku fizycznym i stresie, w stanach zapalnych (jest białkiem ostrej fazy), chorobach nowotworowych, cukrzycy, nadczynności tarczycy, chorobach zakaźnych.

Okresowe i przejściowe wzrosty stężenia vWF (np. po wysiłku fizycznym czy stresie) u osób z typem 1 bardzo utrudniają rozpoznanie i dlatego zalecane jest powtarzanie 2-3 krotne badania w odstępach czasu, za każdym razem po 15-30 minutowym odpoczynku.

Rozpoznawanie choroby von Willebranda można podzielić na: badania kliniczne z wywiadem w kierunku rodzinnego występowania skazy krwotocznej oraz badania laboratoryjne.

TESTY LABORATORYJNE

Badania laboratoryjne obejmują 1/ Badania wstępne, przesiewowe; 2/ Wykrywanie typu vWD; 3/ wykrywanie podtypu vWD.

A/ Badania przesiewowe: Są to badania ogólne, wskazujące (nie zawsze) na możliwość wystąpienia vWD. Obejmują one oznaczenie liczby płytek krwi, czasu krwawienia (obecnie bardzo rzadko wykonywany), czasu APTT, oraz czasu okluzji z zastosowaniem analizatora PFA-100.

Oznaczenie liczby płytek krwi pozwala na wykluczenie małopłytkowości nie związanej z vWD. U chorych z chorobą vWD liczba płytek krwi jest prawidłowa a łagodna małopłytkowość może występować jedynie w typie 2B.

Czas krwawienia ma niewielką wartość diagnostyczną. Jest przedłużony nie tylko

w typie 3 vWD ale także u osób z małopłytkowością, zaburzeniami funkcji płytek, i ściany naczyniowej natomiast jedynie u 50% chorych z typem 1 vWD.

Czas APTT jest przedłużony u osób z niedoborem czynników krzepnięcia drogi wewnątrzpochodnej szczególnie na cz XII, u chorych z typem 3 vWD, u części chorych chorych typem 1 i 2. Prawidłowa wartość APTT nie wyklucza vWD.

Najczulszym badaniem przesiewowym pozwalającym na wykrycie vWD jest pomiar okluzji w aparacie PFA-100 (21). Badanie to pozwala na szybkie oznaczenie funkcji adhezyjnej vWF. . Próbkę krwi cytrynianowej pacjenta wlewa się do kasety pomiarowej, zbudowanej z kapilary i przegradzającej ją membrany z centralnie położonym otworem. Membrana pokryta jest kolagenem (fibrylarnym typu I, ze ścięgien wołu.) oraz agonistą agregacji płytek ADP lub epinefryną. Krew zasysana jest ze zbiornika przez kapilarę i otwór. Przepływ krwi przez kapilary odzwierciedla warunki panujące w naczyniu o wysokim module ścinania. Aparat rejestruje czas (czas okluzji) wpływający od początku pomiaru do chwili zamknięcia otworu przez czop płytkowy. Przedłużony czas okluzji oznacza się u około 95% chorych z vWD. Czas okluzji jest prawidłowy u chorych z typem 2N i u części chorych z łagodną postacią typu 1. Pomiar nie jest jednak swoisty dla vWD ponieważ przedłużenie czasu okluzji może być także spowodowane także wrodzonymi (trombastenia Glanzmanna) i nabytymi zaburzeniami funkcji płytek krwi (przeciwciała przeciw płytkowe, leczenie aspiryną).

B/ Rozpoznawanie typu choroby obejmuje: - oznaczenie antygenu (vWF:Ag); aktywności kofaktora ristocetyny (vWF: R: Cof); wiązania z kolagenem (vWF: CBA, collagen-binding assay) oraz aktywności prokoagulacyjna czynnika VIII.

Oznaczenie stężenia antygenu vWF wykonuje się met. immunoelektroforezy z użyciem przeciwciał poliklonalnych, metodą lateksową lub metodą ELISA z użyciem przeciwciał monoklonalnych. Oznaczenie antygenu pozwala na identyfikację choroby vWD oraz odróżnienie jej od hemofilii A. W hemofilii A antygen vWF jest prawidłowy natomiast w chorobie vWD: w typie 3 poniżej 5%; w typie 1 obniżony proporcjonalnie do vWF:RCo i w typie 2, występującym stosunkowo rzadko, obniżony lub prawidłowy.

vWF:RCo, (kofaktor ristocetyny) jest to test służący do oceny płytkowej hemostazy zależnej od vWF. Test ten jest wykonywany rutynowo przy użyciu automatu koagulologicznego, lub agregometru. Zasadą testu jest pomiar aglutynacji świeżych lub konser-

wowanych płytek (utrwalonych formaliną lub liofilizowanych) pod wpływem ristocetyny glikopeptydu o niskim ciężarze cząsteczkowym uzyskiwanego z *Actinomyces Nocardia Lurida*. Ristocetyna wiąże się z vWf i GPIIb/IIIa powodując zależną od vWF aglutynację płytek krwi. Wynik testu zależy od obecności i prawidłowej struktury wielocząsteczkowych multimetrów i prawidłowej struktury receptora GPIIb/IIIa na powierzchni płytek krwi. U części osób z typem 1, u osób z typem 2A, 2B, 2M aktywność vWF:RCof jest najczęściej obniżona, w typie 2N obniżona lub prawidłowa, w typie 3 nieobecna. vWF:RCo nie wykryje natomiast typu 2 jeśli jest on spowodowany mutacją w domenie vWF odpowiedzialnej za wiązanie kolagenu. Ponieważ u chorych z łagodnym vWD typu 1 vWF:RCo może dawać okresowo wyniki prawidłowe (stres, infekcja, ciąża) u chorych z podejrzeniem vWD badanie należy powtórzyć 2-3 krotnie.

Obecnie opracowano testy alternatywne do R: Cof. Są to testy ELISA z użyciem przeciwciał monoklonalnych anty GPIIb/IIIa. Testy ELISA nie są stosowane rutynowo ponieważ nie są one wystarczająco czułe do wykrywania typu 2 i są dużo bardziej czasochłonne i pracochłonne niż vWF:RCo. Innym testem służącym do badania aktywności biologicznej vWF jest test określający wiązanie vWF do kolagenu (vWF:CB), Test ten, wykonywany met. ELISA, przy użyciu przeciwciał monoklonalnych, pozwala na ocenę adhezji płytek krwi i jest porównywalny a nawet czulszy niż oznaczenie kofaktora ristocetyny. Zasadą testu jest pomiar adhezji osoczkowego vWF do płytki opłaszczonej kolagenem. Wynik testu zależy od obecności wielocząsteczkowych multimetrów vWF i od prawidłowej struktury kolagenu. Test ten pozwala na lepsze niż vWF:RCo zróżnicowanie typu 1 i 2 (41) i precyzyjniejszą ocenę wyników leczenia desmopresyną w typie 2A. (często choć vWF:RCo jest jeszcze prawidłowy, vWF:CB jest dalej przedłużony). vWF:CB nie wykrywa natomiast typu 2 spowodowanego mutacją w obszarze wiązania z GPIIb/IIIa (2M). Identyfikacja typu 2 powinna być przeprowadzana przy zastosowaniu obu testów: vWF:RCo i vWF:CB.

Aktywność czynnika VIII może być oznaczana met koagulologiczną lub chromogeniczną przy użyciu automatów koagulologicznych. Aktywność cz. VIII jest obniżona w typie 2N; w typie 3 poniżej 5%, w pozostałych zaś typach prawidłowa lub obniżona.

C/ Wykrywanie podtypów vWD opiera się na wynikach testu RIPA, analizie multimetrów vWF, ocenie wiązania vWF z cz. VIII.

I. Oznaczenie antygenu AWF:Ag

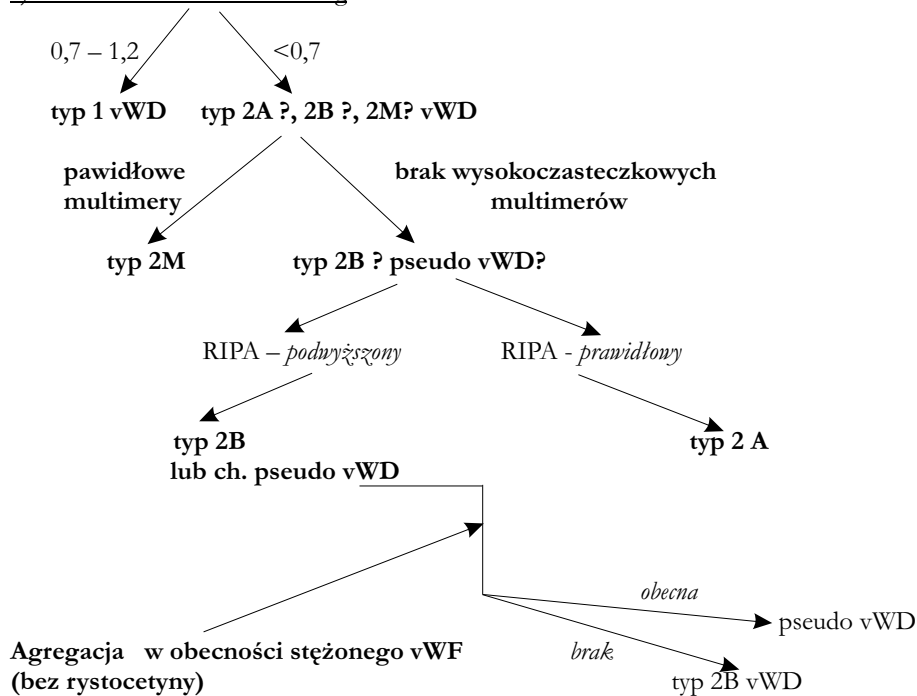
A. Całkowity brak antygenu (vWF:Ag) → Typ 3 vWD

II. Oznaczenie, vWF:RCO, VIII:C, analiza multimerów, test RIPA

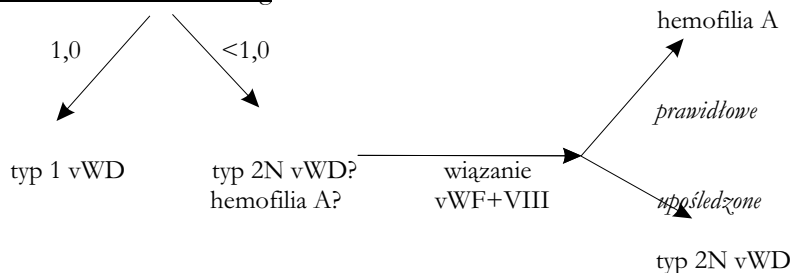
A. vWF:Ag; vWF:RCO; VIII:C - prawidłowe → VWD i hemofilia wykluczone

B. Jeden z parametrów: vWF:Ag; vWF:RCO lub VIII:C – jest nieprawidłowy

a) iloraz vWF:RCO do AWF:Ag



b) iloraz VIII:C do vWF:Ag



Ryc. 4. Algorytm postępowania diagnostycznego u chorych z chorobą von Willebranda

Test RIPA ocenia powinowactwo vWF do receptora GPIb-IX-V płytek krwi. Zasadą badania jest pomiar agregacji płytek krwi w osoczu bogatopłytkowym pod wpływem różnych stężeń rystocetyny, przy użyciu agregometru. Jeżeli agregacja przy stężeniu rystocetyny 0,5 mg/ml (u osoby zdrowej agregacja w tych warunkach nie zachodzi) jest równa lub większa niż 30% co świadczy to o zwiększonym powinowactwie vWF i płytek krwi, wówczas rozpoznajemy typ 2B vWD lub chorobę pseudo von Willebranda. Różnicowanie pomiędzy typem vWD i pseudo vWD opiera się na wyniku agregacji w obecności stężonego vWF (końcowe stężenie powinno być co

najmniej 200 j./dl). Analiza multimerów. Badanie to obejmuje trzy etapy; najpierw wykonuje się elektroforezę w 1,5% żelu agarozowym, następnie immunobloting i na koniec identyfikację produktów rozdziału met chemiluminescencyjną. Ponieważ poszczególne typy vWD różnią się strukturą multimerów, badanie to ma szczególną wartość diagnostyczną (tabela 1). Wiązanie VIII:C. Badanie to pozwala na różnicowanie pomiędzy typem 2N choroby von Willebranda i hemofilią A. W teście wykonywanym dwiema metodami: metodą ELISA z użyciem przeciwciał monoklonalnych i metodą chromogenną określa się ilość cz. VIII związanego z vWF. W typie 2N

wiązanie vWF z cz. VIII jest upośledzone, w hemofilii A zaś prawidłowe.

Płytkowy czynnik von Willebranda. Analizę płytkowego vWF wykonuje się u chorych z typem 1 u których skaza krwotoczna jest niewspółmierna do wyniku vWF:RCO. Badanie to jest jednak bardzo rzadko wykonywane gdyż nie opracowano dotychczas międzynarodowego standardu dla tej metody.

Kolejność wykonywania badań różnicujących typy vWD i oraz sposób analizy wyników u chorych, u których wywiad kliniczny i testy przesiewowe wskazuje na możliwość występowania vWD przedstawia rycina 4. Ze względu na ogromną złożoność diagnostyki vWD może być ona wykonywana jedynie w specjalistycznych pracowniach, wyposażonych w odpowiednią aparaturę i zatrudniających doświadczony personel. W większości laboratoriów możliwe jest jedynie wykonanie podstawowych badań w kierunku vWD. Należy więc pamiętać, że wyniki testów przesiewowych są niewystarczające do potwierdzenia bądź wykluczenia choroby vWD a rozpoznanie choroby jest możliwe jedynie w oparciu o analizę wszystkich właściwości cząsteczki vWF: antygenu, aktywności kofaktora rystocetyny, aktywności czynnika VIII i struktury multimerycznej vWF. Oceniając aktywność czynnika von Willebranda na podstawie wartości kofaktora rystocetyny należy trzeba brać pod uwagę obecność czynników mogących mieć wpływ na stężenie tego białka we krwi.

Adres autora: Pracownia Diagnostyki Choroby von Willebranda Zakładu Hemostazy i Zakrzepic w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Spis piśmiennictwa u autora.

Spis tabel i rycin

Rycina 1. Struktura cząsteczki czynnika von Willebranda

Rycina 2. Adhezja i agregacja z udziałem czynnika von Willebranda

Rycina 3. Udział czynnika von Willebranda w procesie krzepnięcia krwi

Rycina 4. Algorytm postępowania diagnostycznego u chorych z chorobą von Willebranda

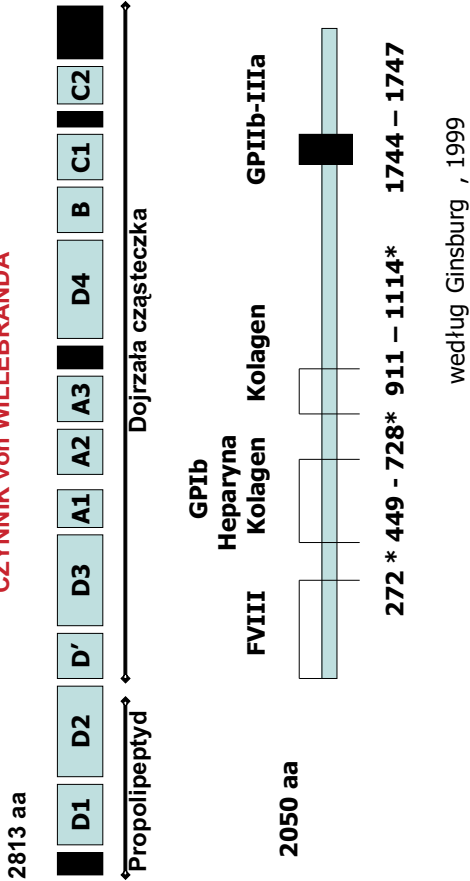
Tabela 4 jest włączona do tekstu.

Tabela 1. Klasyfikacja choroby von Willebranda

Typ	Dziedziczenie	Skaza krwotoczna	Charakterystyka
1	Autosomalne dominujące	Łagodna lub umiarkowana	Niedobór ilościowy, proporcjonalne obniżenie aktywności i antygenu, prawidłowy rozkład multimerów
2A	Autosomalne dominujące (niekiedy recesywne)	Łagodna lub umiarkowana	Defekt uwalniania lub nadmierna proteoliza, brak dużych i pośrednich multimerów
2B	Autosomalne dominujące	Łagodna lub umiarkowana	Zwiększone powinowactwo vWF do GPIb, płytek krwi, brak dużych multimerów, zwiększona agregacja pod wpływem ryostocetyny, łagodna małopłytkowość
2M	Autosomalne dominujące	Łagodna lub umiarkowana	Zmniejszone powinowactwo vWF do płytek krwi pomimo obecności dużych i pośrednich multimerów.
2N	Autosomalne recesywne	Łagodna lub umiarkowana	Upośledzone wiązanie vWF z VIII, rozkład multimerów prawidłowy
3	Autosomalne recesywne	Ciężka skaza krwotoczna	Niedobór vWF (poniżej 5% normy)

VWF mRNA 8,7 kb, 2813 aa

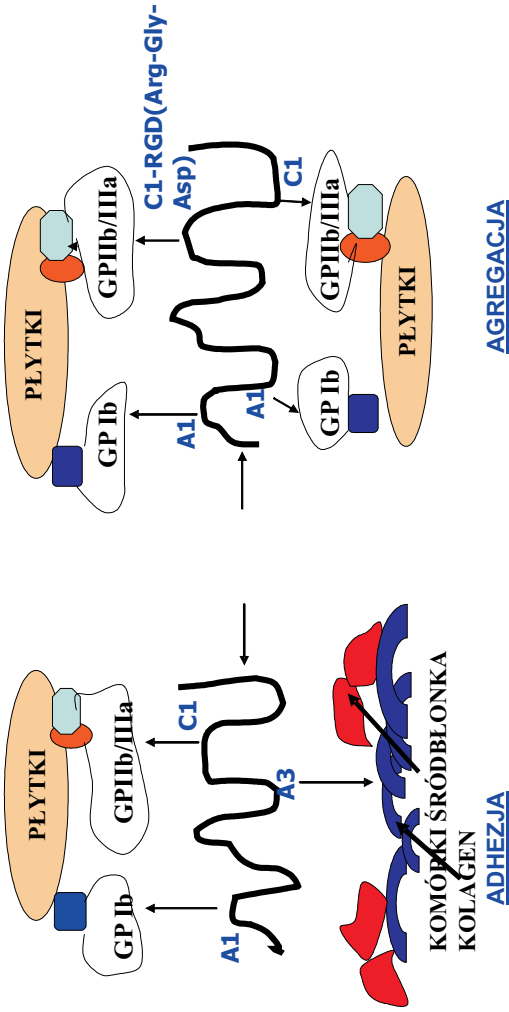
CZYNNIK von WILLEBRANDA



Rycina 1

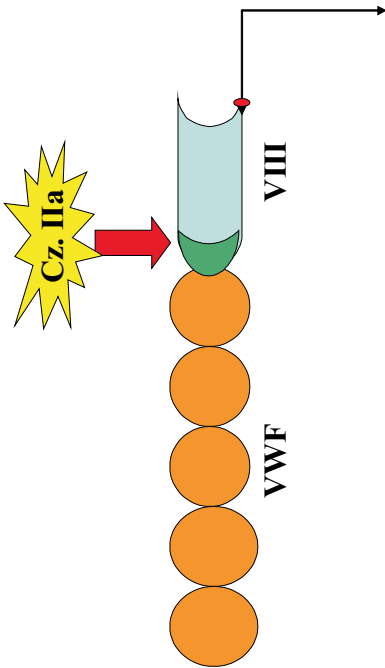
według Ginsburg , 1999

UDZIAŁ CZYNNIKA VON WILLEBRANDA W PIERWOTNEJ HEMOSTAZIE (wg. Berkowitza i Ruggeri, 1994)



Rycina 2

UDZIAŁ CZYNNIKA VON WILLEBRANDA W KRZEPNIECIU KRWI



MIEJSCE WIĄZANIA
FOSFOLIPIDÓW

Rycina 3

Informacja o firmie „Bio-Ksel”

„Bio-Ksel” Sp. z o.o. jest polskim producentem analizatorów koagulologicznych dla laboratoriów analitycznych, bazującym na własnych opracowaniach konstrukcyjnych.



Do aparatów oferujemy odczynniki, materiały zużywalne i szczegółowe metodyk, co pozwala na wykonywanie badań układu krzepnięcia zarówno podstawowych PT, APTT, Fibrynogenu, jak i bardziej zaawansowanych D-Dimerów, AT III i Białka C w sposób szybki, tani i dokładny.



Wieloletnie doświadczenie, wykwalifikowana kadra techniczna oraz praca w certyfikowanym systemie zarządzania jakością ISO 9001 i ISO 13485 pozwalają nam oferować sprzęt wysokiej jakości, o którym nasi Klienci zawsze wyrażają pozytywne opinie, świadczy o tym już trzykrotnie przeprowadzone badanie ankietowe wśród użytkowników, gdzie oceny bardzo dobre stanowią 90% wszystkich ocen.

Każda sugestia ze strony naszych Klientów jest szczegółowo rozpatrywana, by w pełni zaspokoić Państwa potrzeby.



Bio-Ksel Sp. z o.o.
ul. Kaliowa 3, 86-300 Grudziądz
tel. (48-56) 462-24-24,
fax. (48-56) 462-33-33, 465-45-18

www.bio-ksel.com.pl
e-mail: bksel@bio-ksel.com.pl