

DIAGNOSTA

laboratoryjny

Rok XVIII nr 2 (59) **czerwiec 2020**



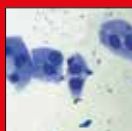
BEZPŁATNA GAZETA KRAJOWEJ IZBY DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH

ISSN 2084-1663

**NA WALKĘ
Z KORONAWIRUSEM
NIE MOGLIŚMY
PRZYGOTOWAĆ SIĘ
WCZEŚNIEJ**



**DIAGNOSTYKA
SEROLOGICZNA
COVID-19**



**OBRAZ KOMÓRKOWY
MOCZU W TĘPYM URAZIE
PĘCHERZA MOCZOWEGO**



**ZNACZENIE DIAGNOSTYKI
LABORATORYJNEJ
W RZS**

OKIEM DIAGNOSTY

→ **GOOD LABORATORY PRACTICE W LABORATORYJNEJ DIAGNOSTYCE SARS-COV-2**



Zapewniamy rozwiązania do diagnostyki COVID-19

- ▶ **Kompleksowa organizacja laboratorium**
- ▶ **Specjalistyczna diagnostyka w kierunku COVID-19**
(pełna oferta: pobieranie materiału zakaźnego, izolacja materiału genetycznego, testy molekularne i niezależna kontrola jakości oraz testy serologiczne, itp.)
- ▶ **Doradztwo: organizacja własnego laboratorium czy współpraca z innym?**

Oferujemy m.in.:

- ▶ **Zestawy do wykrywania obecności wirusa SARS-CoV-2 z certyfikatem CE-IVD:**
Taqpath™ COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit, nr A48067
Zestaw multiplexowy (reakcja w jednym dołku), wykrywa 3 geny koronawirusa: orf-1ab, S protein, N protein.
Kontrola: bakteriofag MS2.
Cała procedura diagnostyczna, wykorzystująca zestaw Taqpath™ COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit, analizator qPCR oraz oprogramowanie dostarczane razem z zestawem (COVID Interpretive Software) zapewnia diagnostyczne rozwiązanie certyfikowane znakiem CE-IVD do wykrywania obecności wirusa SARS-CoV-2 w próbkach pacjentów.
- ▶ **Niezależną kontrolę AcroMetrix COVID-19 RNA Control (RUO)**
Umożliwia niezależne od producenta kontrolowanie i walidację wszystkich dostępnych testów molekularnych w kierunku COVID-19 bez względu na używany analizator.
- ▶ **Testy immunologiczne i kasetkowe.**

W przypadku zainteresowania, pytań lub porad prosimy o kontakt
pod adresem: pl.covid19@thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC



NIE POTRZEBUJEMY OKLASKÓW

Minione cztery miesiące były dla diagnostów laboratoryjnych czasem wielu zmian. Pandemia spowodowała, że z powodu zaostrzonego reżimu sanitarnego w wielu laboratoriach zmieniła się organizacja pracy. W krótkim czasie wdrożono diagnostykę SARS-CoV-2, bazując na dotychczasowej aparaturze lub tworząc od podstaw nowe pracownie lub całe laboratoria zajmujące się tą diagnostyką. To dzięki zaangażowaniu diagnostów laboratoryjnych i zmysłowi organizacyjnemu wielu kierowników udało się rozwinąć sieć laboratoriów „covidowych”. Za każdym wynikiem badania w kierunku koronawirusa SARS-CoV-2, o których codziennie donoszą media, kryje się praca całego zespołu medycznego laboratorium diagnostycznego, w którym diagnosta laboratoryjny, interpretując i autoryzując uzyskane wyniki, odgrywa kluczową rolę. Nasza codzienna, ciężka praca nigdy nie była aż tak medialna. W końcu dotarliśmy tam, gdzie najtrudniej było nam się dostać, czyli do świadomości naszych pacjentów, których materiały codziennie badamy. Wszak pacjenci do laboratorium nie wchodzi. Duży wysiłek całego środowiska został przez Ministerstwo Zdrowia zauważony i nagrodzony oklaskami. Pragnę wyrazić nadzieję, że nie jest to wszystko co rządzący mają do zaoferowania naszej grupie zawodowej. Nasze wynagrodzenia muszą być w końcu adekwatne do odpowiedzialności, jaka na nas ciąży. Podwyżki, które wynikają z ustawy o sposobie kształtowania wynagrodzenia minimalnego pracowników medycznych często są symboliczne i nie wpływają istotnie na poprawę sytuacji finansowej diagnostów.

Zakończył się okres czasowego dopuszczenia możliwości wykonywania tzw. zdalnej autoryzacji wyników badań laboratoryjnych

przepisami rozporządzenia Ministra Zdrowia z 17 marca 2020 r. Uznane autorytety – eksperci w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej przygotowali ekspertyzę, z której wynika, że zdalne autoryzowanie wyników badań jest całkowicie niezgodne z aktualną wiedzą medyczną i zasadami wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego. Zdalnie autoryzowany wynik badania to potencjalne zagrożenie dla zdrowia i życia pacjenta, który będzie w oparciu o ten wynik diagnozowany i leczony. Ekspertyza została przekazana do Ministerstwa Zdrowia.

Problemem jest również finansowa dyskryminacja diagnostów, którzy w odróżnieniu od innego personelu sprawującego opiekę nad chorymi na COVID-19 lub podejrzanymi o tę chorobę, nie dostają żadnych dodatków, mimo że są narażeni na kontakt z materiałem zakaźnym, który badają, a nierzadko również pobierają. Dlatego proszę Państwa o sygnalizowanie działań, zachowań lub zaniechań, które w Państwa ocenie mogą mieć cechy nierównego traktowania diagnostów laboratoryjnych wobec innych osób wykonujących zawody medyczne, podlegających tym samym normom prawa (np. w świetle prawa pracy, nieuznawania możliwości wypłacania dodatków do wynagrodzeń diagnostom laboratoryjnym na mocy specustawy o COVID). Musimy głośno i wyraźnie powiedzieć: STOP dyskryminacji w ochronie zdrowia.

Wprowadzone ograniczenia dotyczące izolacji spowodowały, że nie odbywają się kursy, konferencje i szkolenia w formach do jakich przywykliśmy. Coraz częściej korzystamy z narzędzi do zdalnej komunikacji i spotykamy się na webinarach, również tych organizowanych przez KIDL. Ich liczba i dostępność będzie coraz większa. Po raz pierwszy również Dzień Diagnosty Laboratoryjnego obchodzony był wyłącznie w „sieci”. Ogromne zainteresowanie z jakim spotkaliśmy się w tym dniu dowiodło, że system ochrony zdrowia nie istnieje bez diagnostów laboratoryjnych.

Udało się pozyskać darczyńców środków higieny osobistej na kwotę kilkudziesięciu tysięcy złotych. Środki zostały rozdysponowane do pracowników laboratoriów medycznych. Akcja spotkała się z bardzo dobrym odbiorem w środowisku.

Dziękuję darczyńcom, na których pomoc mogliśmy liczyć w czasie pandemii, a także dwóm firmom kurierskim, które prosiły o anonimowość, a pomogły w wysyłce części paczek.



Alina Niewiadomska

Prezes Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych

Drodzy Czytelnicy,

zgodnie z uchwałą nr 93/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 29 maja 2020 r. począwszy od tego numeru czasopismo naszego Samorządu będzie wydawane wyłącznie w formie elektronicznej i tak jak dotychczas dostępne będzie, razem z numerami archiwalnymi, na stronie internetowej KIDL.

W tym numerze kontynuujemy tematykę związaną z epidemią SARS-CoV-2. Tak więc zapraszam do zapoznania się z wywiadem z dr hab. Agnieszką Woźniak-Kosek na temat zmian w funkcjonowaniu laboratorium w tym wyjątkowym czasie oraz do lektury artykułu dotyczącego diagnostyki molekularnej SARS-CoV-2. Pozostałe artykuły poruszają m.in. tematykę znaczenia diagnostyki laboratoryjnej w reumatoidalnym zapaleniu stawów czy obrazu komórkowego moczu w tępych urazach pęcherza. Państwa uwadze polecam również omówione zagadnienia prawne: opinię na temat dodatkowych świadczeń pieniężnych dla diagnostów pracujących w placówkach zajmujących się pacjentami zakażonymi SARS-CoV-2 oraz artykuł Rzecznika Dyscyplinarnego KIDL na temat języka, w jakim wydawane są wyniki badań laboratoryjnych. Życzę przyjemnej lektury.

Maciej Janiak

Redaktor naczelny „Diagnosty laboratoryjnego”



Polska firma projektująca i produkująca analizatory koagulologiczne w oparciu o własne rozwiązania konstrukcyjne

**Koagulometry
Odczynniki
Metodyki
Literatura
Serwis**



Bioksel 6100 z możliwością dostawiania próbek pacjentów w dowolnej chwili bez przerywania i zatrzymywania pracy aparatu (random access).



CC-4000
koagulometr półautomatyczny
przeznaczony do średnich
i małych laboratoriów

**Bio-Ksel ul. Kaliowa 3, 86-300 Grudziądz
tel.: 56 462 24 24
e-mail: biuro@bio-ksel.pl, www.bio-ksel.pl**

DIAGNOSTA

laboratoryjny

W NUMERZE:

SŁOWO PREZESA

- 3** Nie potrzebujemy okłasków
Alina Niewiadomska

OKIEM DIAGNOSTY

- 6** Good Laboratory Practice (GLP) w laboratoryjnej diagnostyce wirusa Sars-CoV-2
Magdalena Traczyk-Borszyńska, Izabela Dróżdż, Maciej Borowiec
Przełomem w rutynowej diagnostyce zakażeń stało się wprowadzenie testów opartych o amplifikację materiału genetycznego (NAAT; ang. Nucleic Acid Amplification Test). Ich zaletą jest możliwość wykrywania patogenów bezpośrednio w materiale pobranym od pacjenta, bez konieczności prowadzenia hodowli, co zdecydowanie przyspiesza proces diagnostyczny.

WYWIAD

- 10** Na walkę z koronawirusem nie mogliśmy przygotować się wcześniej
Alicja Dusza
Wywiad z kierownikiem Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej Centralnego Szpitala Klinicznego Wojskowego Instytutu Medycznego dr hab. n. med. Agnieszką Woźniak-Kosek.

OKIEM ZWIĄZKOWCA

- 14** Ustawa z 8 czerwca 2017 r. o sposobie ustalania najniższego wynagrodzenia zasadniczego niektórych pracowników zatrudnionych w podmiotach leczniczych – przekleństwo czy dar losu?
Łukasz Tucki, Iwona Kozłowska

DIAGNOSTYKA

- 15** Diagnostyka serologiczna Covid-19. Jakie parametry testu mają wpływ na wiarygodność wyników?
Barbara Pawłowska
Rozpoznanie COVID-19 wymaga potwierdzenia obecności materiału genetycznego wirusa w próbce pobranej z dróg oddechowych pacjenta. Służą do tego testy amplifikacji kwasów nukleinowych (ang. nucleic acid amplification tests, NAAT), w tym RT-PCR.

OKIEM PRAWNIKA

- 20** Opinia prawna dotycząca dodatkowych świadczeń pieniężnych dla diagnostów laboratoryjnych za pracę w placówkach zajmujących się pacjentami zakażonymi lub podejrzanymi o zakażenie wirusem Sars-CoV-2
Maciej Niezabitowski

DIAGNOSTYKA

- 23** Obraz komórkowy moczu w tępych urazach pęcherza moczowego
Marta Kowal
W artykule zaprezentowane są zmiany w obrazie komórkowym moczu wywołane tępych urazem pęcherza moczowego.



- 26** Wyspy trzustkowe w mikrokapsułkach. Nowe możliwości leczenia cukrzycy typu 1

Natalia Grzegorzak, Beata Janiga

W przebiegu cukrzycy typu 1 proces autoimmunologiczny doprowadza do zniszczenia komórek β wysp trzustkowych, produkujących insulinę i prowadzi do jej niedoboru powodując hiperglikemię.

- 28** Mukowiscydoza i transplantacja płuc w aspekcie zużycia krwi i jej składników

Magdalena Sorys, Magdalena Sorys, Magdalena Warchoń, Maciej Urlik

Mukowiscydoza (zwłóknienie torbielowate, CF) jest uwarunkowaną genetycznie chorobą wielonarządową, postępującą i nieuleczalną, o ciężkim przebiegu, wyniszczającą przede wszystkim płuca i układ trawienny.

- 31** Znaczenie diagnostyki laboratoryjnej w reumatoidalnym zapaleniu stawów

Karolina Chrebelka, Ewa Krysiak, Ewelina Nastarowicz

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS, gościec przewlekłe postępujący, artretyzm) to przewlekła choroba autoimmunologiczna tkanki łącznej o nieznannej etiologii. Z badań wynika, że trzy razy częściej chorują kobiety niż mężczyźni.

OKIEM RZECZNIKA

- 35** Po polsku!

Beata Dziedzicka

OKIEM PRAWNIKA

- 36** Język dokumentacji medycznej

INFORMATOR DIAGNOSTY

- 37** Informator o uchwałach organów Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych

Wydawca:

Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych
03-428 Warszawa, ul. Konopacka 4
tel. 22 741 21 55, 22 741 21 57, 22 741 11 60; fax 22 741 21 56
Numer rachunku: 72 1020 1042 0000 8802 0010 5692
Bank PKO BP IV Oddział Warszawa

Redakcja:

Maciej Janiak – Redaktor naczelny
Matylda Kludkowska – Sekretarz redakcji
Alicja Dusza – Specjalista ds. komunikacji
Sylwia Moskwa, Małgorzata Brauncajs, Maciej Borowiec, Paweł Gliński, Agnieszka Gierszon, Justyna Chlebowska-Tuz, Paweł Leszczyński, Monika Łysakowska, Anna Meyer-Stachowska, Agnieszka Załupska

● dr n. med. Magdalena Traczyk-Borszyńska¹● dr n. med. Izabela Drózdź¹● prof. dr hab. n. med. Maciej Borowiec¹

¹ Pracownia Wirusów Oddechowych, Centralny Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego w Łodzi; Zakład Genetyki Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

GOOD LABORATORY PRACTICE (GLP) W LABORATORYJNEJ DIAGNOSTYCE WIRUSA SARS-COV-2

Metody biologii molekularnej szturmem podbijają laboratoria, stając się elementem rutynowej diagnostyki. Znalazły one szerokie zastosowanie nie tylko w diagnostyce chorób genetycznych czy nowotworowych, ale także coraz powszechniej wykorzystywane są w mikrobiologii i wirusologii do identyfikacji mikroorganizmów. Zdecydowanym przełomem w rutynowej diagnostyce zakażeń stało się wprowadzenie testów opartych o amplifikację materiału genetycznego (NAAT; ang. *Nucleic Acid Amplifikation Test*). Ich niewątpliwą zaletą jest możliwość wykrywania patogenów bezpośrednio w materiale pobranym od pacjenta, bez konieczności prowadzenia hodowli, co zdecydowanie przyspiesza proces diagnostyczny.

Ze względu na pandemię koronawirusa Sars-CoV-2, ostatnie miesiące wymogły na nas zdecydowanie bliższe zapoznanie się z diagnostyką wykorzystującą metody biologii molekularnej. Skala problemu zmusiła do wdrożenia testów NAAT na niespotykaną dotąd w Polsce skalę. Bardzo szybko okazało się też przed jak wieloma problemami może stanąć diagnosta wykonujący te badania – szczególnie gdy do tej pory nie miał zbyt dużego doświadczenia w posługiwaniu się tymi technikami. Dość boleśnie został obnażony brak specjalistycznej kadry i dobrze wyposażonych laboratoriów. Wychodząc (choć po części) na przeciw tym problemom, w niniejszym artykule chcielibyśmy poruszyć problem kontaminacji w laboratoriach oznaczających wirusa Sars-CoV-2.

Kontaminacja, to nic innego jak zanieczyszczenie. W biologii molekularnej wyróżniamy dwa rodzaje kontaminacji:

- zanieczyszczenie próby materiałem ze środowiska oraz
- zanieczyszczenie próby produktami innych reakcji PCR.

Oba rodzaje kontaminacji mogą wystąpić w laboratorium. Na szczęście mamy do dyspozycji szereg procedur, które należy wdrożyć aby w naszym Covidowym laboratorium ten problem nie występował.

Technika PCR oraz jej modyfikacja real-time PCR (PCR w czasie rzeczywistym) mają wiele zalet. Są szybkie, relatywnie tanie i dostępne oraz dają powtarzalne wyniki. Najistotniejsze są jednak ich wysoka czułość (możliwe jest wykrycie już kilku kopii wirusa) oraz specyficzność (przy odpowiednio dobranych starterach powieleniu ulega tylko jeden, interesujący nas odcinek DNA). Niestety jest też druga strona medalu. Ze względu na wysoką czułość, metody te są niezwykle wrażliwe na zanieczyszczenia laboratoryjne, z czego musimy sobie zdawać sprawę, gdyż na ten moment złotym standardem w diagnostyce zakażeń wirusem Sars-CoV-2 jest wykorzystanie metody rRT-PCR (ang. *real-time Reverse-Transcriptase – Polymerase Chain Reaction*). Metoda rRT-PCR jest modyfikacją metody PCR, która polega na detekcji materiału genetycznego wirusa poprzez zastosowanie w jednym teście kilkusetapowej diagnostyki. Ponieważ wirus Sars-CoV-2 jest wirusem RNA, na wstępie konieczne jest przeprowadzenie odwrotnej transkrypcji, czyli przepisania matrycowego RNA na komplementarne DNA (cDNA). Dopiero wówczas możliwe jest przeprowadzenie amplifikacji (powielenia) materiału genetycznego wirusa (już w formie cDNA) w reakcji PCR w czasie rzeczywistym. Zastosowanie techniki real-time PCR pozwala

w tym przypadku na znaczne skrócenie czasu trwania diagnostyki, ponieważ bezpośrednio po zakończeniu reakcji widzimy jej wynik. Ale nie jest to jedyna korzyść płynąca z zastosowania pomiaru przyrostu fluorescencji jako formy detekcji produktów reakcji PCR. W przypadku klasycznej metody amplifikacji kwasów nukleinowych, aby uwidocznić produkty reakcji konieczne byłoby przeprowadzenie elektroforezy np. w żelu agarozowym. Nieumiejętne otwieranie probówek z produktami reakcji PCR celem nastawienia elektroforezy, może skutkować zanieczyszczeniem miejsca pracy tymi produktami, czego konsekwencją może być przeniesienie ich na czyste probówki, tipsy czy odczynniki. Łatwo się zatem domyślić jaki jest efekt kontaminacji – generowanie wyników fałszywie dodatnich.

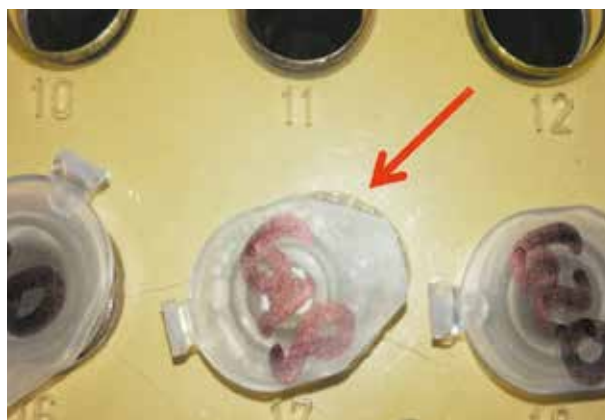
Aby zminimalizować ryzyko kontaminacji konieczne jest rozdzielanie w przestrzeni etapów preparatyki kwasów nukleinowych (rycina 1). Bezwzględnie należy rozdzielić miejsce przeznaczone do izolowania DNA/RNA od miejsc gdzie przygotowywane będą odczynniki oraz miejsc gdzie nastawiana będzie reakcja amplifikacji. Zalecenia mówią o zorganizowaniu przestrzeni roboczej w laboratorium tak, aby ruch w kolejnych pomieszczeniach możliwy był tylko w jednym kierunku – od przestrzeni czystych tzw. pre-PCR do przestrzeni brudnych tzw. post-PCR. W miejscu gdzie składamy reakcję PCR, bezwzględnie należy używać szaf z laminarnym przepływem powietrza. Oczywistym jest, że każde z wyznaczonych pomieszczeń czy przestrzeni, musi być wyposażone w osobny, tylko jej dedykowany zestaw pipet, statywów, wórków, termobloków, mikrowirówek, końcówek do pipet, pudełek z rękawiczkami jednorazowymi, fartuchów laboratoryjnych czy markerów do opisywania probówek. Niedopuszczalne jest mieszanie tych sprzętów pomiędzy przestrzenią czystą i brudną. Rekomendowane jest również, aby pracownicy po przejściu do strefy brudnej (post-PCR) nie wracali danego dnia do strefy czystej (pre-PCR). W realiach laboratorium COVID, warunek ten może być spełniony tylko jeżeli każda ze stref obsługiwana będzie przez innego pracownika. Musimy zdawać sobie sprawę, że do kontaminacji może dojść w każdej ze stref w naszym laboratorium, czyli na każdym z etapów diagnostyki wirusa.

Rycina 1. Podział na strefy w Pracowni Wirusów Oddechowych CSK UMed w Łodzi. Na pierwszym planie widoczna jest strefa przyjęcia materiału; na drugim planie - pomieszczenie gdzie odbywa się etap izolowania kwasów nukleinowych.



Zanim przejdziemy do etapu wykrywania materiału genetycznego wirusa, musimy go wyizolować z próbki pobranej od pacjenta. Sam proces izolowania materiału genetycznego, choć z pozoru banalny, może narażać na wiele problemów. O ile na pobranie i transport próbek nie mamy zbytnio wpływu, o tyle do procesu izolacji należy dołożyć wszelkich starań, aby ostatecznie uzyskać materiał genetyczny jak najwyższej jakości. Gwarantuje to sukces dalszych analiz.

Na tym etapie diagnostyki istnieje duże ryzyko zanieczyszczenia próby badanej materiałem ze środowiska czyli inną badaną próbką. Jeżeli próbka, którą często nieświadomie zanieczyściliśmy inne próby badane okaże się dodatnia, to ostatecznie generować będziemy wyniki fałszywie pozytywne. Aby tego uniknąć należy zwrócić uwagę na kilka kwestii. Po pierwsze – jakość plastików stosowanych w naszym laboratorium. Przykładem może być stosowanie probówek 1,5 ml słabej jakości, co może skutkować wydostawaniem się próbek z probówek podczas lizy na bloku grzejnym (rycina 2). Bardzo ważną kwestią jest zatem czystość naszych rękawiczek, ponieważ w sytuacji przedstawianej na rycinie istnieje bardzo duże ryzyko przeniesienia wirusa z próbki na próbkę podczas zamykania i otwierania korków probówek. Po drugie – metoda izolacji. Kwasu nukleinowego może-



Rycina 2. Zastosowanie wątpliwej jakości probówek 1,5 ml, skutkujące wydostawaniem się próbki na zewnątrz probówki podczas lizy na bloku grzejnym (czerwona strzałka).

my izolować manualnie lub automatycznie z wykorzystaniem dedykowanych aparatów. W przypadku diagnostyki dużej ilości próbek, wykorzystanie aparatów do izolacji DNA/RNA znacznie zwiększy przepustowość laboratorium. Zminimalizujemy również ryzyko kontaminacji oraz, niewykluczone, że poprawimy jakość uzyskiwanych izolatów, bowiem metody manualne/kolumnkowe wymagają dość dużej wiedzy odnośnie techniki, którą się posługujemy, a także wprawy. Przykładem jest źle doczyszczony izolat, który będzie nam generował inhibicję PCR, a zbyt niska wydajność elucji skutkować może wynikami fałszywie ujemnymi ze względu na małą ilość matrycy w badanej próbce. Dlatego też izolacji manualnej nie powinno powierzać się osobom niedoświadczonym.

Przed przystąpieniem do pracy, w każdej ze stref musimy bezwzględnie pamiętać o czyszczeniu powierzchni roboczych oraz sprzętów. Wskazane jest sukcesywne zdejmowanie blatu w komorze BSL-2 i przeprowadzenie procesu czyszczenia, używając środków do dekontaminacji powierzchni oraz środków usuwających pozostałości DNA i RNA. Tyimi samymi środkami czyszczącymi należy dekontaminować komory do PCR i pipety. Ważnym elementem jest stosowanie lamp UV, które nie rozwiążą naszych wszystkich problemów z kontaminacją, ale na pewno pomogą ją zminimalizować.

Kolejnym etapem diagnostyki Sars-CoV-2 narażonym na zanieczyszczenie jest przygotowanie reakcji PCR. Tu zabezpieczeniem przed kontaminacją jest stosowanie końcówek do pipet z filtrem. Zapobiegają one przedostawaniu się aerozoli do wnętrza pipety. Tak jak już wcześniej wspomniano, istnieje też możliwość przeniesienia produktów wcześniejszych reakcji PCR do aktualnie składanej. Zapobiec temu możemy poprzez dokładne oczyszczenie powierzchni oraz sprzętów, na których pracujemy. Niewątpliwym atutem jest używanie zestawów diagnostycznych, w których zastosowano system z N-glikozylazą uracylu DNA (UDG), czyli enzymem zapobiegającym przenoszeniu zanieczyszczeń pomiędzy reakcjami PCR. Niestety, zdecydowana większość dostępnych testów do diagnostyki Sars-CoV-2 nie jest wzbogacona o ten enzym. Prawdopodobnie podyktowane jest to tym, że metoda wykrywania wirusa Sars-CoV-2 jest wieloetapowa, co stanowi duże wyzwanie dla producentów zestawów diagnostycznych, a obecność kolejnego enzymu w mieszaninie reakcyjnej może generować komplikacje w działaniu samego testu (szczególnie w przypadku jednodołkowego multipleksu).

Najważniejszą kontrolą jakości w przypadku testów opierających się na metodzie real-time PCR jest stosowanie kontroli pozytywnej, negatywnej i próby ślepej (rycina 3). Wszystkie komercyjnie dostępne testy na Sars-CoV-2 posiadające certyfikaty CE-IVD muszą być zaopatrzone w kontrolę.



Rycina 3. Kontrola jakości w testach real-time PCR.

Kontrola pozytywnej reakcji będzie weryfikowała, czy odczynniki (w szczególności enzymy) działają w sposób prawidłowy. Najczęściej kontrolą tą jest fragment materiału wirusowego, który musi ulec amplifikacji w reakcji real-time PCR. Niestety, zanieczyszczenie mieszaniny reakcyjnej kontrolą pozytywną będzie generowało wyniki fałszywie pozytywne. Szczególnie uważać należy na kontrole liofilizowane, które należy rozpuścić przed nastawieniem reakcji. Bezwzględnie należy to robić z daleka od miejsca gdzie składana jest reakcja PCR. Liofilizowana kontrola pozytywna zastosowana w jednym z testów na Sars-CoV-2 używanych w laboratorium jest szczególnie niebezpieczna, ze względu na bardzo wysoką liczbę kopii wirusowej matrycy. Nieprawidłowy proces rozpuszczania liofilizowanej kontroli pozytywnej, skutkuje przeniesieniem syntetycznego materiału wirusowego na całe laboratorium, a co za tym idzie kontaminacją nastawianych reakcji. W przypadku takiej kontaminacji, oprócz dokładnej dekontaminacji laboratorium, należy niezwłocznie zmienić test, którym oznaczamy wirusa uprzednio upewniając się, że nowy test nie amplifikuje kontroli pozytywnej z wcześniej stosowanego testu, z którego doszło do zanieczyszczenia.

Kontrola negatywna i próba ślepa często są tożsame. Najczęściej stosowana jest woda używana w biologii molekularnej. Obecność takiej kontroli pomaga w wykryciu kontaminacji. Z definicji bowiem nie spodziewamy się amplifikacji wirusowego materiału w tego typu próbach. Jeśli jednak do niej dochodzi, mamy ewidentny dowód na kontaminację reakcji i badanie takie należy bezwzględnie powtórzyć. Przy jednoczasowym nastawianiu większej ilości prób badanych dobrze jest nastawić więcej niż jedną kontrolę negatywną reakcji, najlepiej umieszczając je w różnych miejscach płytki reakcyjnej. Zdecydowanie ułatwi to zidentyfikowanie ewentualnej kontaminacji.

Większość testów na Sars-CoV-2 występuje w wersji jakościowej. Oznacza to, że wynik dla danej próbki raportujemy jako pozytywny lub negatywny. Nie oznacza to jednak, że nie je-

steśmy w stanie zweryfikować ilości matrycy w próbkach dodatnich. Im niższe Ct, tym więcej materiału wirusowego w badanej próbce. I analogicznie, im wyższe Ct, tym mniej materiału wirusowego w badanej próbce. Wiedza ta jest przydatna w identyfikowaniu kontaminacji, ponieważ wszystkie próby „słabo dodatnie” czyli takie, gdzie amplifikację obserwujemy po 35 cyklu mogą być kontaminacją a nie wynikiem pozytywnym. Czy wszystkie próbki dodatnie z Ct powyżej 35, będące na granicy czułości testu są podejrzane o kontaminację? Tak, ale nie wszystkie nią są. Próbki słabo dodatnie będziemy obserwować w przypadku pacjentów, którzy wychodzą z infekcji wirusem Sars-CoV-2. Na poniższej rycinie przedstawiono wynik badania wirusa Sars-CoV-2 w grupie 92 pacjentów. Na niebiesko zaznaczony jest gen ORF1ab, na czerwono gen N, a na zielono – kontrolę wewnętrzną reakcji (IC). Wynik tego typu powinien wzbudzić naszą czujność, ze względu na dużą liczbę krzywych, dla których Ct wynosi 35 i wyżej (rycina 4A), pomimo czystych kontroli negatywnych reakcji (rycina 4B). W tym przypadku, nasze wątpliwości okazały się być uzasadnione.



Uwagę zwraca bardzo wysoka wiremia u 5 pacjentów (Ct dla genów ORF1ab i N pomiędzy 11 a 17 zaznaczone czerwoną strzałką). Najprawdopodobniej te próbki przyczyniły się do kontaminacji pozostałych prób. Kolejne pobranie i oznaczenie wirusa u „wątpliwych dodatnich” pacjentów, pozwoliło na wydanie wiarygodnego wyniku. Działanie takie było konieczne również dlatego, iż nie było pewności, czy do zanieczyszczenia nie doszło już na etapie pobrania wymazów.

Aby kontrole reakcji działały prawidłowo, należy bezwarunkowo stosować się do wytycznych producenta testu. Jeżeli producent zaleca izolowanie próbek kontrolnych w sposób analogiczny jak próby badane, należy się do tego zastosować, ponieważ inaczej narazimy się na dodatkowe koszty związane z powtórzeniem badania. Dodanie kontroli pozytywnej bezpośrednio do PCR bez wcześniejszej izolacji, skutkować będzie brakiem amplifikacji dla tych prób. Znajomość technik biologii molekularnej oraz ich ograniczeń, zdecydowanie ułatwia analizowanie wyników testów opartych na technice real-time PCR. Świadomość błędów jakich możemy spodziewać się na każdym z etapów diagnostyki zarówno wirusa Sars-CoV-2 jak i innych mikroorganizmów pozwala na wydanie wiarygodnego wyniku. Dlatego idealnym rozwiązaniem byłoby zatrudnienie w laboratorium rutynowo wykonującym tego typu oznaczenia przynajmniej jednego doświadczonego w tych technikach diagnostyki laboratoryjnej. Zalecany jest także udział w kontrolach zewnątrzlaboratoryjnych oraz stosowanie kontroli wewnątrzlaboratoryjnej.





● Alicja Dusza
specjalista ds. komunikacji KIDL



NA WALKĘ Z KORONAWIRUSEM NIE MOGLIŚMY PRZYGOTOWAĆ SIĘ WCZEŚNIEJ

Jak zmieniła się praca diagnostów laboratoryjnych w czasie pandemii? Jak funkcjonuje laboratorium w tym trudnym czasie? O tym z kierownikiem Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej Centralnego Szpitala Klinicznego Wojskowego Instytutu Medycznego dr hab. n. med. Agnieszka Woźniak-Kosek specjalistą z zakresu mikrobiologii i epidemiologii rozmawia Alicja Dusza.

Alicja Dusza: Co zmieniła pandemia koronawirusa w funkcjonowaniu laboratorium?

Agnieszka Woźniak-Kosek: Na początku marca br. za sprawą pandemii wywołanej przez koronawirusa SARS-CoV-2 nasze laboratorium musiało dostosować się do nowej rzeczywistości. Koniecznością i moim obowiązkiem stało się zadbanie o nowy sposób funkcjonowania Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej WIM, tak aby zoptymalizować prowadzoną diagnostykę analityczną i mikrobiologiczną, i przygotować do nowych warunków epidemicznych. Dostosowano obsadę personelu laboratoryjnego do zmienionych warunków pracy, wprowadzono wiele innowacyjnych rozwiązań w infrastrukturze laboratorium, zabezpieczono dostępność do potrzebnych odczynników i aparatury laboratoryjnej, środków ochrony indywidualnej i środków dezynfekcyjnych. Na walkę z koronawirusem nie mogliśmy przygotować się wcześniej, nikt nie przewidywał tak trudnego scenariusza. W naszym przypadku szybkie i bardzo trafne decyzje podjęte na szczeblu Dyrekcji WIM pozwoliły wypracować takie standardy, które działają z dobrym skutkiem do dnia dzisiejszego i moim zdaniem, zostaną z nami na długi czas.

Jak wygląda praca laboratorium w czasie pandemii?

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej WIM to nie tylko duża, bo prawie 1000 m² powierzchnia laboratoryjna, nowoczesny park analizatorów, ale przede wszystkim personel – prawie 70 pracują-

cych osób. Praca odbywa się 24 godziny na dobę. Wykonujemy badania dla pacjentów w prawie 1000-lóżkowym szpitalu plus pacjenci SOR (Szpitalny Oddział Ratunkowy) średnio około 100, 150 osób dziennie. Unikalnym rozwiązaniem w skali kraju, które udało nam się wypracować na czas pandemii, jest wydzielenie specjalnej strefy w obszarze laboratorium do wykonywania pełnego panelu dostępnych badań dla pacjentów COVID+, podejrzanych lub z kontaktu. Funkcjonuje tam osobna rejestracja oraz badania są prowadzone również w sposób ciągły. Poza tym badania dla pacjentów szpitala leczonych w klinikach / oddziałach / zakładach (wolnych od wirusa) są prowadzone na dotychczasowych warunkach jako badania rutynowe. Naszym autorskim rozwiązaniem jest wprowadzenie w systemie rejestracji próbek oznaczonych różnokolorowymi kodami na zleceniach i próbkach. Pozwala to wprowadzić jak najbardziej optymalny sposób realizacji badania i wpłynęło na czas wydania wyniku. Próbkami o kodach czerwonych to badania cito, na takich kolorach kodów pracuje cały obszar SOR-u i oczywiście próbki cito z całego szpitala, kody o kolorze żółtym zarezerwowane są dla pacjentów onkologicznych. Funkcjonują jeszcze kody pomarańczowe dla badań dodatkowych, dla badań realizowanych w czasie rutynowym przydzielono naklejki z kodami na białym tle. Ten system bardzo ułatwia nam pracę w laboratorium, znalazł też zwolenników wśród lekarzy i pielęgniarek.



Ubiór ochronny pracowników ZDL wykonujących analizy w laboratorium specjalnym w zależności od opracowywanego materiału.



Hermetyczna szufla podawcza. Z chwilą otwarcia drzwiczek od strony laboratorium blokada uniemożliwiająca otwarcie drzwi od strony osoby dostarczającej materiał. Cały mechanizm posiada sygnalizację dźwiękową.



Praca w laboratorium specjalnym.



Jakie środki bezpieczeństwa zostały wprowadzone w związku z pandemią koronawirusa?

Od początku, kiedy dostaliśmy pierwszą próbkę od pacjenta COVID+, a było to w drugim tygodniu marca br., byliśmy już przygotowani. Zadziałały nasze procedury wewnętrzne. W laboratorium dodatkowo podjęliśmy szereg kroków zabezpieczających cały zespół. Ze względu na fakt codziennej pracy z materiałem potencjalnie zakaźnym zwiększenie i tak już wysokiego reżimu sanitarnego nie było takie trudne do osiągnięcia. W dobie pandemii dodatkowo:

- została wydzielona w laboratorium strefa specjalna, gdzie prowadzone są wszystkie badania jakie mamy w ofercie laboratoryjnej również dla pacjentów COVID+, podejrzanych lub z kontaktu. Zadbaliśmy o to, żeby materiał ten nie trafiał do rejestracji ogólnej. Takie próbki są w dalszym ciągu dostarczane bezpośrednio do tej części poprzez specjalne okno podawcze typu szufla. Dzięki sieci informatycznej nie ma problemu

z dystrybucją wyników już po stronie rutynowej pracy laboratoryjnej, zamontowano w tej części specjalnej monitoring wizyjny tak, aby z zewnątrz z korytarza w laboratorium można było kontrolować pracę jednej bądź dwóch osób pracujących w laboratorium specjalnym. Jest to rozwiązanie sprawdzone np. w laboratorium trzeciego typu bezpieczeństwa BSL3 (*bio-safety level 3*) i wyżej klasy;

- zwiększyliśmy częstotliwość dezynfekcji powierzchni roboczych;
- zgodnie z wprowadzonymi w WIM standardami personel został przeszkolony jak postępować w przypadku pacjentów COVID+ i dodatkowo odbyło się szkolenie praktyczne w jaki sposób bezpiecznie ściągać środki ochrony indywidualnej po kontakcie z materiałem, który mógł zawierać tego wirusa;
- cały obszar laboratoryjny został dodatkowo wyposażony w przepływowe lampy UV;
- oprócz istniejących w każdym pomieszczeniu dystrybutorów ze środkami do dezynfekcji rąk dodatkowo zostały rozłożone

w obszarach wejścia i wyjścia do laboratorium specjalne chłonne maty nasączone środkiem na bazie chloru do dezynfekcji obuwia po to, aby jak najbardziej efektywnie minimalizować narażenie personelu na zakażenie;

- ograniczyliśmy do absolutnego minimum wszystkie spotkania z osobami z zewnątrz;
- aby minimalizować prace w dużych grupach zespół został podzielony na części w taki sposób aby badania były wykonywane płynnie, ale przez zmniejszoną obsadę laboratoryjną.



dr hab. n. med. Agnieszka Woźniak-Kosek

Co z badaniami, które wykonywane są rutynowo? Czy obserwuje się ich spadek?

Tak, zaobserwowałam spadek liczby badań, zwłaszcza od połowy marca do połowy maja. Jednak w naszym menu laboratoryjnym wpisane jest 460 różnych oznaczeń analityczno-mikrobiologicznych. Wszystkie one są dostępne bez względu na fakt pandemii dla wszystkich naszych pacjentów. Przyjmując tak absolutnie zgrubnie, że każdy pacjent ma wykonywanych 4–5 różnych oznaczeń, to w szpitalu, gdzie funkcjonuje Centrum Urazowe, gdzie średnio w WIM jest leczonych około 900–1000 pacjentów daje na dobę około 4000 analiz nie mylić z badaniami. Zatem spadek o kilka procent jest mało odczuwalny, zwłaszcza w przypadku podziału personelu na dwie niezależne grupy. Analizując dotychczasowe statystyki ten czas można porównać do czasu wakacyjnego, gdzie również notuje się podobny spadek w wykonywaniu badań. Oczywiście w przypadku pandemii skala tego obniżenia ma zupełnie inne przełożenie.

Jakie trudności zauważyła Pani w trakcie pandemii?

Problemy mniejszych i większych w zarządzaniu laboratorium w czasie wolnym od pandemii było co niemiara, a teraz wcale nie jest mniej. Jednak obszar, który mnie osobiście zdziwił to problemy związane z szybkim dostosowaniem się do dynamicznie zmieniającej się nowej dla wszystkich sytuacji. Konstrukcja psychiczna w takich przypadkach jest jednak wielką zagadką. W naszym szpitalu dyrekcja widząc narastający problem obaw o zdrowie nasze, bliskich, pacjentów, którzy wymagają medycznej pomocy udostępniła dla wszystkich pracowników całodobową linię telefoniczną, aby każdy z nas, jeśli czuł taką potrzebę, mógł uzyskać pomoc lub skonsultować swój problem z psychologiem/psychiatrą. Obserwując zespół widziałam, że dla części z nas był to stres paraliżujący, dla części stres mobilizujący, ale byli też tacy, którzy wyraźnie poinformowali mnie, że w części specjalnej z różnych względów pracować nie będą. To był dla mnie sygnał, że przygotowując cześć specjalną laboratorium robiłam dobrze, bo odizolowałam miejsce wykonywania badań od pacjentów zakażonych od badań wykonywanych dla pacjentów wolnych od zakażenia tym wirusem, a tym samym organizacja pracy

pozwoлиła wykorzystać potencjał całego personelu, bo kto wie jak zdecydowałyby te osoby, których strach paraliżował w pracy. Na szczęście w naszym laboratorium ta sytuacja trwała krótko, może wpływ miało też to, że sama na początku pomimo natłoku innych zarządczych obowiązków włączałam się do pracy z zespołem w tym szczególnym obszarze pod szczególnym nadzorem. Sama szkoliłam pierwsze grupy tam pracujące. Obecnie ten problem nie istnieje. Teraz organizacyjnie rozwiązaliśmy to w ten sposób, że mamy wcześniej ustaloną na dany dzień przygotowaną listę wejść dla personelu z podanym czasem. To bardzo dobrze się sprawdza.

Kolejna sprawa, która mnie bardzo zastanowiła, to dostarczanie do laboratorium różnych przesyłek typu kontroli zewnątrzlaboratoryjnych, po dokumentację. Kurierzy, wszystko co powinno być dostarczone do laboratorium, bo np. przesyłka powinna być dostarczona w określonym czasie i temperaturze, zaczęli dostarczać do kancelarii ogólnej WIM argumentując, że boją się o swoje zdrowie. Obecnie ta sytuacja również się normuje.

Czy personel pracuje w systemie rotacyjnym (aby ograniczyć możliwość ewentualnego przeniesienia zakażenia)?

Zespół został tak podzielony, aby zapewnić ciągłość pracy w laboratorium, ale nie nazwałabym tego rotacją. Rotacja jako proces planowania zmian w obszarze laboratoryjnym bardziej dotyczy oddelegowania pracownika na inne stanowisko zgodnie z jego doświadczeniem i kwalifikacjami. Celem takiej zmiany powinien być rozwój, poszerzenie wiedzy oraz zwiększenie motywacji do pracy. Taki zabieg stosuje się by zapobiec wypaleniu zawodowemu, bo to też dotyczy naszego środowiska, a także by uniknąć stałego wykonywania przez pracowników powtarzalnych, monotonnych czynności, o które jak wiemy w laboratorium nie trudno. W naszym przypadku wyglądało to zupełnie inaczej. Zespół Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej WIM to blisko 70 osób. Wśród nas są diagnostyki laboratoryjne z doświadczeniem potwierdzonym specjalizacją, są też tacy którzy dopiero zgłębiają tajniki analityczne i mikrobiologiczne, są też technicy analityki medycznej. Dodatkowo zespół merytoryczny wzmocniony jest poprzez sekretarki medyczne, które prowadzą rejestrację (przyjmowanie materiału do badań) i wreszcie są też pomoce laboratoryjne. Cały nasz zespół jest jak mur składający się z poszczególnych cegiełek z bardzo solidną spoiną, a jest nią wzajemne zaufanie i szacunek.

Organizację czasu pracy jaka miała miejsce w ostatnim czasie nazwałabym systemem zrównoważonego czasu pracy. Polegał on na wydłużeniu czasu pracy w danym dniu, czy tygodniu, na rzecz skrócenia czasu pracy w innym dniu, albo udzieleniu dni wolnych od pracy. Taka forma aktywności zawodowej zrównoważyła czas pracy tak, aby w miesięcznym okresie rozliczeniowym

nie był przekroczony dopuszczalny wymiar czasu pracy. Wszystko to odbywało się zgodnie z art. 135 Kodeksu Pracy. W praktyce wyglądało to tak, że zespół analityczny został podzielony na dwie grupy. Jedna grupa przychodziła w dni parzyste, druga w dni nieparzyste, praca całego personelu odbywała się w systemie 12-godzinny lub w dyżurowym 24-godzinny. Tylko ja przychodziłam każdego dnia do pracy i to na mnie spoczywał ciężar zachowywania wobec wszystkich takiego reżimu sanitarnego, aby w przypadku mojego zakażenia nie ucierpiał ani zespół, ani pacjenci, którym udzielamy świadczeń laboratoryjnych. W takim przypadku ważne było dystansowanie się personelu tak, aby grupy nie spotykały się ze sobą. A w przypadku ewentualnego stwierdzenia zakażenia w jednej grupie, druga mogła przejąć całe obowiązki diagnostyczne do czasu podjęcia pracy przez grupę pierwszą. To w języku jakości nazywa się zarządzanie konfliktem. Podobnie wyglądała praca zespołu mikrobiologicznego, co prawda tam funkcjonował system pracy podzielonego zespołu w systemie 3 dni w tygodniu i 4 dni w tygodniu zamiennie. Było mi o tyle łatwo wdrożyć takie postępowanie w życie, ponieważ dla mnie, mikrobiologa/epidemiologa z ponad 25-letnią praktyką nie są to zagadnienia nowe, a praca w wojsku w laboratoriach o różnym reżimie sanitarnym nauczyła mnie właśnie w praktyce stosowania tego typu rozwiązań. Oczywiście bez zaangażowania zespołu, którym kieruję nie byłoby to możliwe.

W okresie prawie 3 miesięcy doświadczenie, zaangażowanie zespołu i stosowanie się do zwiększonego reżimu sanitarnego zaowocowało tym, że wszyscy przetrwaliśmy ten gorący okres bez szwanku. Nikt z nas nie zachorował i trwamy dalej na stanowisku pracy, aby nieść pomoc pacjentom.

Czy były trudności z dostawą odczynników i materiałów zużywalnych?

Nie żyjemy na wyspie która opływa w dostatki, oczywiście były różne trudne sytuacje jednak tutaj znów muszę powtórzyć, że wypracowane standardy pracy i zaangażowanie całej społeczności WIM pozwoliło nam wszystkim pracować spokojnie i bezpiecznie. Na szczególne słowa uznania zasługuje kierownik Apteki Zakładowej, który, do tej pory zachodzę w głowę jak to robił, ale nasz laboratoryjny zespół podobnie jak i inne komórki organizacyjne WIM były zawsze na czas zabezpieczone w środki ochrony indywidualnej. Odczynniki to trochę inna sprawa. Nasze umowy na zakup odczynników są zawierane na określony z założenia dłuższy czas, zatem zabezpieczenie nas w potrzebne materiały leży po stronie firm, a do tego sami tak planujemy, aby mieć stosunkowo duży zapas odczynników, żeby nie doszło do takiej sytuacji, że nie możemy wykonać jakiejś analizy. Wszelkie nasze ustalenia wewnętrznie i bardzo dobra komunikacja z dystry-

butorami potrzebnych nam odczynników zadziałała w tym trudnym okresie nienagannie. Oprócz zaopatrzenia w w/w materiały pozostaje jeszcze cały dział związany z obsługą techniczno-eksploatacyjną i tutaj również szef tego działu ze swoimi pracownikami dokonywał przysłowiowych cudów, aby tam, gdzie to było konieczne, dostosować obszar laboratoryjny: pomieszczenia, meble itp. do panujących obecnie zwiększonych reżimów sanitarnych.

Czy według Pani wydarzenia ostatnich miesięcy wpłynęły i w jaki sposób na postrzeganie zawodu diagnosty laboratoryjnego przez inne zawody medyczne i pacjentów?

Diagności Laboratoryjni nie są grupą jednorodną tak jak np. lekarze czy pielęgniarki. Jest to spowodowane pewną kompetencyjnością wykonywanych czynności diagnostycznych. Jest grupa analityków, jest grupa mikrobiologów, toksykologów, cytologów itp. i to dobrze że tak jest, ale to w przestrzeni publicznej powoduje tyle, że przeciętny Kowalski nie do końca wie, kto do tej grupy należy. Obecna sytuacja epidemiczna spowodowała to, że zrobiło się o nas głośno. Teraz diagności na co dzień niewidoczni, pracujący najczęściej za drzwiami stref zamkniętych wychodzą powoli z cienia.

Wiadomo nie od dzisiaj, że i zaangażowanie w procesy analityczne, ich jakość i wiarygodność mają bardzo duży, często decydujący wpływ na postawioną przez lekarza diagnozę, a to z kolei stanowi o powodzeniu terapeutycznym. Przygotowując się do wykonywania tego trudnego zawodu każdy z nas zdobywa obszerną wiedzę medyczną i zwięźceniem tych wysiłków jest otrzymanie prawa wykonywania zawodu. Będąc członkami KIDL

wykonyjemy zawód medyczny zaufania publicznego. Z pełnym przekonaniem podpisuję się pod słowami, jakie na dzień naszego święta napisał w liście otwartym do Diagnostów Laboratoryjnych Konsultant Wojskowej Służby Zdrowia w Dziedzinie Diagnostyki Laboratoryjnej: „Tworzymy grupę o wyjątkowym w skali kraju potencjale, która jest uprawniona do wykonywania zastrzeżonych czynności medycznych. Nie zapominajmy, że stanowimy kluczową część szeroko rozumianej rodziny medycznej i możemy, a nawet powinniśmy, być z tego dumni”. Żywię nadzieję, że nasza praca w tym trudnym okresie jest tak samo doceniana przez pacjentów, jak praca lekarzy i innych służb medycznych. ●



● **Łukasz Tucki**
KZZPMLD

● **Iwona Kozłowska**
KZZPMLD

USTAWA Z 8 CZERWCA 2017 R. O SPOSOBIE USTALANIA NAJNIŻSZEGO WYNAGRODZENIA ZASADNICZEGO NIEKTÓRYCH PRACOWNIKÓW ZATRUDNIONYCH W PODMIOTACH LECZNICZYCH – PRZEKLEŃSTWO CZY DAR LOSU?

Od wybuchu pandemii COVID-19, czyli choroby wywołanej koronawirusem SARS-CoV-2 zarówno w Europie, jak i w Polsce wiele spraw zostało wyrzuconych do góry nogami. Sytuacja dalej jest niepewna, nie wiemy kiedy skończy się epidemia i czy w okresie jesienno-zimowym nie powróci do nas ze zdwojoną siłą? Jedno co nie ulega wątpliwości to to, że jak w soczewce uwaga mediów i ludzi skupiła się na niedocenianych i zamkniętych w swoich miejscach pracy pracownikach laboratoriów diagnostycznych. Z okazji tegorocznego Dnia Diagnosty Laboratoryjnego Minister Łukasz Szumowski mówił o naszym środowisku: „Doceniam rolę, jaką Państwo spełniają i przekazuję życzenia siły, zdrowia oraz wszelkiej pomyślności w życiu osobistym, jak i zawodowym”. Minister zdrowia niestety uznał, że kredyt zaufania, który od nas dostał, jest wieczny i można już chodź na skróty.

Ustawa o sposobie ustalania najniższego wynagrodzenia zasadniczego niektórych pracowników zatrudnionych w podmiotach leczniczych powstała w roku 2017 w odpowiedzi na działania Porozumienia Zawodów Medycznych. Zawody medyczne (diagności laboratoryjni, lekarze, pielęgniarki, ratownicy, fizjoterapeuci) zjednoczone wówczas we wspólnej walce o wzrost wynagrodzeń pracowników ochrony zdrowia i wzrost nakładów na ochronę zdrowia złożyły w Sejmie projekt obywatelski ustawy o sposobie ustalania najniższego wynagrodzenia zasadniczego pracowników zatrudnionych w podmiotach leczniczych, którego namiastką jest obecnie obowiązująca Ustawa.

Zarówno projekt obywatelski jaki i projekt ministerialny (w tym głównie tabela współczynników służących do przeliczania wynagrodzeń) od początku budziły kontrowersje wśród przedstawicieli Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych, związków zawodowych i pracowników laboratoriów.

Mimo że dostawaliśmy sygnały, że duża część pracowników medycznych laboratoriów diagnostycznych w Polsce bez tej Ustawy jeszcze długo nie miałyby szans na żadną podwyżkę, to gdy Ustawa weszła w życie wiedzieliśmy, że nie zadowoli ona wszystkich. Pojawiło się bowiem światło w tunelu dla najniżej zarabiających osób, ale czas dojścia do kwoty minimalnej był stanowczo zbyt długi, a pensje diagnostów i techników z większych miast na lata zostały zamrożone, ponieważ dawno już osiągnęli już oni ustawowe minima wynagrodzeń, a dyrekcje szpitali niechętnie były przyznawaniu podwyżek przekraczających wymaganą kwotę bazową.

W wyniku nowelizacji Ustawy w roku 2019 podniesiono kwotę bazową z 3900 na 4200 złotych. Wobec tego: na dzień 1 lipca 2020 r. przy obliczaniu docelowych najniższych wynagrodzeń oraz kwot podwyżek

zgodnie z art. 3 ust 1 pkt 5 lit d zastosowanie powinna znaleźć kwota 4918 zł 17 gr, tyle bowiem, zgodnie z komunikatem Prezesa Głównego Urzędu Statystycznego z dnia 11 lutego 2020 r. wyniosło przeciętne wynagrodzenie w gospodarce narodowej w roku 2019.

Od dnia 1 stycznia 2022 r. zgodnie z art. 3.1. pkt 4. wynagrodzenie zasadnicze pracownika wykonującego zawód medyczny oraz pracownika działalności podstawowej, innego niż pracownik wykonujący zawód medyczny, nie może być niższe niż najniższe wynagrodzenie zasadnicze ustalone w sposób określony w ust. 1 na dzień 31 grudnia 2021 r.

Od stycznia 2020 roku Narodowy Fundusz Zdrowia zbierał dane o zarobkach wszystkich pracowników szpitali w Polsce, wynikało to głównie ze zwiększenia płacy minimalnej do kwoty 2600 zł brutto i związanych z tym podwyżek dla najmniej zarabiających pracowników (w tym diagnostów i techników laboratoryjnych). Kolejnym etapem miały być prace nad nowelizacją Ustawy prowadzone w Komisji Trójstronnej Ochrony Zdrowia, jednak te ze względu na epidemię COVID-19 odwołają się w czasie.

Powstaje więc pytanie: co po styczniu 2022 roku? Jeśli podczas prac nad nowelizacją Ustawy nie zmienią się nie tylko współczynniki, ale i nie pojawi się zapis dotyczący regulacji płacowych po roku 2021 względem corocznie aktualizowanej średniej krajowej, to należy liczyć się z tym, że Ustawa ponownie zamrozi nasze pensje na kilkanaście lat na poziomie płacy minimalnej.

Wielokrotne spotkania związkowców i przedstawicieli Izby z Ministerstwem Zdrowia, protesty głodowe i akcje absencji chorobowej miały wyraźnie wskazać, że wskaźniki są niesprawiedliwe, że pogłębiają biedę i niezadowolenie i należy je dostosować do polskich realiów zwłaszcza w kontekście podwyżek dla pielęgniarek, rezydentów czy ratowników medycznych. Jedynie systemowe zapisy zawarte w odpowiednich aktach prawnych mogą zagwarantować stały i proporcjonalny wzrost wynagrodzeń pracowników laboratoriów.

Oczekujemy zatem niezwłocznego wznowienia rozmów w ramach dialogu społecznego, tym bardziej że o konieczności pilnej nowelizacji Ustawy nie mówią tylko związki zawodowe, ale także organizacje pracodawców, w tym przedstawiciele szpitali. Ustawa musi precyzować, gdzie znajdują się źródła finansowania wzrostu wynagrodzeń. Forum Związków Zawodowych jasno wypowiada się w tej sprawie: „Jeden z naszych głównych postulatów brzmi – medycy powinni zarabiać wystarczająco w jednym miejscu pracy! Godne warunki pracy medyków to gwarancja zdrowia i bezpieczeństwa nas wszystkich!”. ●



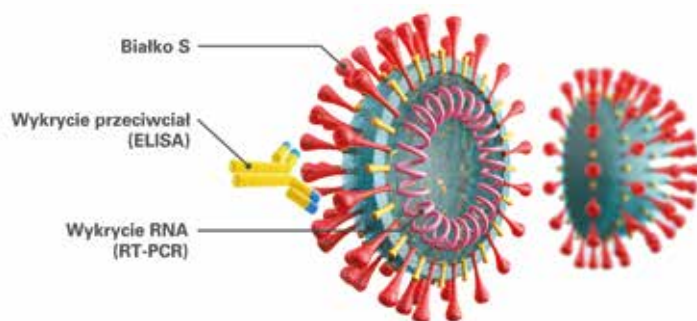
● **dr n. med. Barbara Pawłowska**
Specjalista ds. Infekcji
EUROIMMUN Polska Sp. z o.o.

DIAGNOSTYKA SEROLOGICZNA COVID-19.

JAKIE PARAMETRY TESTU MAJĄ WPŁYW NA WIARYGODNOŚĆ WYNIKÓW?

Diagnostyka COVID-19 zgodna z zaleceniami WHO

COVID-19 (ang. **Coronavirus disease 2019**) to choroba zakaźna wywołana przez koronawirusa SARS-CoV-2, która niespodziewanie zmieniła życie milionów ludzi na całym świecie. Ze względu na brak specyficznych objawów infekcji, zgodnie z zaleceniami Światowej Organizacji Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO), rozpoznanie COVID-19 wymaga potwierdzenia obecności materiału genetycznego wirusa w próbce pobranej z dróg oddechowych pacjenta. Służą do tego testy amplifikacji kwasów nukleinowych (ang. *nucleic acid amplification tests*, NAAT), w tym RT-PCR [1].



Rys. 1. SARS-CoV-2 – budowa.

W późniejszej fazie zakażenia SARS-CoV-2 istotną rolę zaczyna odgrywać **diagnostyka serologiczna** [2], czyli badania wykrywające **specyficzne przeciwciała anty-SARS-CoV-2**, które zgodnie z zaleceniami WHO mogą być stosowane jako dodatkowe narzędzie diagnostyczne [1]. Testy serologiczne wydają się być idealnym dopełnieniem metody RT-PCR, wydłużając czas umożliwiający przeprowadzenie wiarygodnej diagnostyki COVID-19.

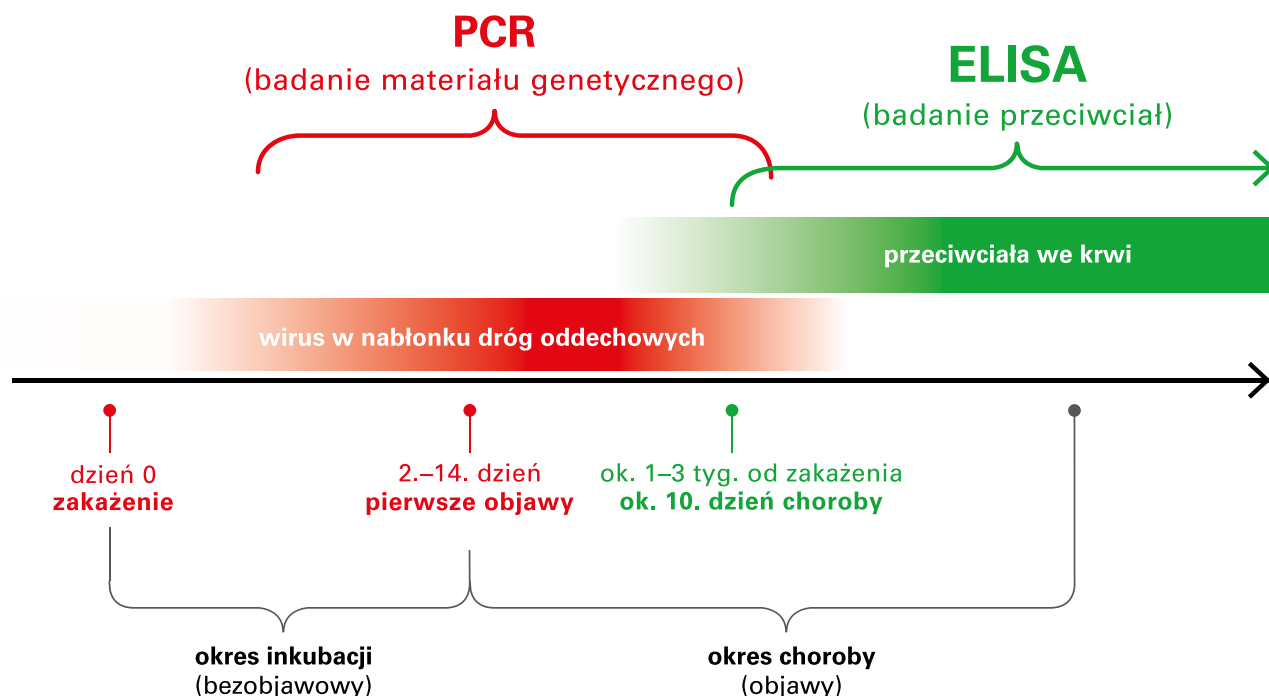
Jakie jest zastosowanie testów serologicznych w COVID-19?

Specyficzne przeciwciała pojawiają się w organizmie z pewnym opóźnieniem po kontakcie z patogenem. Detekcja przeciwciał anty-SARS-CoV-2 w klasie **IgG** we krwi pacjenta jest możliwa od **około 10. dnia od czasu wystąpienia pierwszych objawów** klinicznych, natomiast specyficzne przeciwciała w klasie **IgA** oraz **IgM** są zwykle wykrywalne **nawet kilka dni wcześniej** [3].

Wykrycie specyficznych przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 umożliwia **potwierdzenie kontaktu z nowym koronawirusem**, co ma istotne znaczenie m.in. przy:

- **badaniach osób szczególnie narażonych na SARS-CoV-2** (np. personel szpitali), które ze względu na wykonywany zawód mogą być źródłem zakażenia dla ludzi starszych i schorowanych, oraz **badaniach osób mających kontakt z wieloma ludźmi** (np. policja, personel sklepów, aptek),
- diagnozowaniu pacjentów z powikłaniami **po niedawnym przebiegu infekcji grypopodobnej**, którzy nie mieli przeprowadzonej diagnostyki w kierunku infekcji SARS-CoV-2,
- **badaniach epidemiologicznych**, mających na celu ustalenie rozpowszechnienia zakażenia w populacji,
- identyfikowaniu **ozdrowieńców z wysokim poziomem IgG** w celu pobrania od nich osocza do stosowania w **terapii najcięższych przypadków COVID-19**,
- opracowywaniu nowych **leków** czy **szczepionki** przeciwko COVID-19.

Ponadto testy serologiczne **wykonywane w interwałach czasu** pozwalają wychwycić ewentualną **serokonwersję** u bezobjawowych nosicieli SARS-CoV-2 lub chorych na łagodną postać COVID-19 przypominającą przeziębienie.



Rys. 2. Przebieg infekcji SARS-CoV-2.

Jakie znaczenie ma różnicowanie klas przeciwciał anty-SARS-CoV-2?

Dzięki różnicowaniu klas przeciwciał wykrywanych w przebiegu zakażeń można z dużym prawdopodobieństwem określić fazę infekcji. **Przeciwciała klasy IgA** uważane są za pierwszą linię obrony przed patogenami w błonach śluzowych organizmu. Odpowiadają m.in. za **neutralizację wirusów** wywołujących infekcje dróg oddechowych. We krwi przeciwciała IgA pełnią rolę uzupełniającą, biorą udział m.in. w neutralizowaniu tych antygenów, które przekroczyły barierę śluzówkową i przedostały się do krwioobiegu [4]. Przeciwciała te są wykrywane w wysokich mianach w przypadku **wielu zakażeń układu oddechowego** i są uznawane za cenny marker diagnostyczny. Intensywna synteza przeciwciał klasy IgA u chorych na COVID-19 została już opisana [5]. Co więcej, wykazano, że w odpowiedzi na SARS-CoV-2 produkcja przeciwciał klasy IgA jest znacznie bardziej nasilona i przeciwciała tej klasy utrzymują się dłużej niż przeciwciała klasy IgM [6]. Detekcja swoistych przeciwciał anty-SARS-CoV-2 w klasie IgA może być **dodatkowym narzędziem diagnostycznym już we wczesnej fazie infekcji** wywołanej przez SARS-CoV-2, ponieważ przeciwciała te produkowane są wcześniej niż immunoglobuliny klasy G [7] [6]. Diagnostyka serologiczna **większości świeżych** zakażeń opiera się na oznaczaniu **przeciwciał klasy IgM**. Przeciwciała IgM stanowią około 5–10% całej puli immunoglobulin u dorosłych i występują niemal wyłącznie **w odpowiedzi pierwotnej na patogen** [8]. W przypadku infekcji wywołanych przez koronawirusy, przeciwciała w klasie IgM są w większości skierowane przeciwko białku N. U chorych na COVID-19 zarówno przeciwciała klasy IgM, jak i IgA są wykrywalne od około 6.–8. dnia od wystąpienia pierwszych objawów klinicznych [6].

Wykrycie wyłącznie **przeciwciał klasy IgG** pozwala przypuszczać, że pacjent **przebył infekcją** w przeszłości. Przeciwciała tej klasy są elementami pamięci immunologicznej i w przypadku wielu zakażeń pełnią funkcję ochronną przed ponowną infekcją [9]. Wstępne badania nad odpowiedzią układu immunologicznego na SARS-CoV-2 wykazały, że obecność przeciwciał wytworzonych w wyniku pierwotnego zakażenia może pełnić funkcję ochronną w przypadku reinfekcji [10]. Korzyści płynące z oznaczania specyficznych przeciwciał w tej klasie jest znacznie więcej, m.in. umożliwiają identyfikację osób o wysokim stężeniu przeciwciał anty-SARS-CoV-2 (**potencjalni dawcy osocza**). Zarówno w Polsce, jak i w wielu innych krajach w leczeniu chorych na COVID-19 w ciężkim stanie klinicznym stosuje się już osocze pozyskane od ozdrowieńców [11] [12].

Testy wykrywające równolegle przeciwciała wielu klas wydają się mieć ograniczone zastosowanie. Wynik takiego badania świadczy jedynie o kontakcie z nowym koronawirusem, ale nie może już być podstawą do oceny potencjalnej odporności pacjenta na SARS-CoV-2 czy identyfikacji dawców osocza, jak w przypadku wyników testów wykrywających wyłącznie przeciwciała klasy IgG. Ponadto powszechnie wiadomo, że przeciwciała należące do poszczególnych klas różnią się między sobą siłą wiązania antygeny. Immunoglobuliny, które pojawiają się na wczesnym etapie zakażenia (IgM, IgA), cechuje niższe powinowactwo do antygeny w porównaniu do syntezowanych w późniejszej fazie infekcji przeciwciał klasy IgG. Z tego względu testy wykrywające wyłącznie przeciwciała klasy IgG są bardziej swoiste niż testy służące do jednoczesnej detekcji przeciwciał różnych klas.

Od czego zależy specyficzność testu do wykrywania przeciwciał?

Przy wyborze testu serologicznego do diagnostyki zakażeń koronawirusem SARS-CoV-2 należy zwrócić uwagę na zastosowany antygen, ponieważ determinuje on czułość i specyficzność badania.

Koronawirusy zbudowane są z czterech białek strukturalnych, ale wyłącznie białka S oraz N posiadają właściwości immunomodulujące [13]. Analiza genomu SARS-CoV-2 wykazała, że **podjednostka S1 białka S SARS-CoV-2 cechuje się najniższą homologią** z analogicznymi regionami innych patogennych dla człowieka koronawirusów. Wynika z niej, że pełnej długości białka N oraz S i podjednostka S2 białka S są regionami konserwatywnymi. Może to powodować wysoki odsetek reakcji krzyżowych w testach serologicznych [7] [14]. Szczegółowe dane dotyczące homologii immunogennych białek strukturalnych w obrębie chorobotwórczych dla człowieka koronawirusów przedstawiono w tabeli 1 [7]. Zastosowanie jako antygeny wyłącznie podjednostki S1 białka S skutkuje wysoką specyficznością testu serologicznego.

		N	S	S1	S2
Beta-CoV	SARS-CoV	90	77	66	90
	MERS-CoV	49	33	24	43
	HCoV-OC43	34	33	25	42
	HCoV-HKU1	34	32	25	40
Alpha-CoV	HCoV-229E	28	30	24	35
	HCoV-NL63	29	28	21	36

Tab. 1. Porównanie podobieństwa sekwencji aminokwasowych (%) wybranych białek SARS-CoV-2 z analogicznymi regionami innych koronawirusów [7].

Co więcej, wykazano, że w przypadku zakażeń SARS-CoV-2 wniknięcie wirusa do komórki docelowej odbywa się poprzez domenę wiążącą receptor obecną na podjednostce S1 białka S, która łączy się z receptorem ACE2 (ang. *angiotensin-converting enzyme 2*) znajdującym się na komórkach nabłonka pęcherzyków płucnych [12]. Wydaje się więc, że **przeciwciała skierowane przeciwko białku S mogą pełnić kluczową rolę w mechanizmach odporności przeciwko COVID-19** [6] [15]. Wykazano również ścisłą korelację pomiędzy testem EUROIMMUN Anty-SARS-CoV-2 ELISA opartym o wysokospecyficzną podjednostkę S1 białka S SARS-CoV-2 a testem neutralizacji PRNT (ang. *plaque reduction neutralization test*) [5] [7]. Niedawno przedstawiono wyniki badań naukowców z Uniwersytetu w Bonn, w których potwierdzono **bardzo dobrą korelację** testu EUROIMMUN z testem neutralizacji **na poziomie 91%** [16]. Test PRNT uważa się za „złoty standard” pomiaru skuteczności przeciwciał w neutralizowaniu wirusów chorobotwórczych [17].

Co może wpływać na wynik badania przeciwciał?

Wpływ na wynik badania laboratoryjnego mają również niektóre właściwości materiału pobranego od pacjenta, traktowane jako czynniki interferujące. Podczas interpretacji wyników testów labo-

ratoryjnych należy rozważyć możliwość uzyskania nieprawidłowych rezultatów spowodowanych m.in. przez hiperlipamię, hiperbilirubinemię czy hemolizę próbki. Wykazano, że w testach EUROIMMUN Anty-SARS-CoV-2 ELISA wpływ tych czynników na wynik badania jest znikomy (brak interferencji aż do stężenia 10 mg/ml hemoglobiny, 20 mg/ml trójglicerydów i 0,4 mg/ml bilirubiny).

Ponadto nieprawidłowości w wynikach badań diagnostycznych mogą być skutkiem właściwości farmakologicznych wielu leków czy suplementów diety. Przykładowo, w powszechnie stosowanych systemach testowych, wykorzystujących układ streptawidyna–biotyna, może dochodzić do **interferencji na skutek spożywanych przez pacjenta suplementów zawierających biotynę**, co skutkuje wzrostem jej stężenia w surowicy. Egzogenna biotyna obecna w analizowanej próbce może powodować wysycenie miejsc wiążących na streptawidynie, prowadząc do otrzymania wyników fałszywie ujemnych. Suplementacja biotyną nie wpływa natomiast na wynik testu ELISA wykorzystującego koniugat enzymatyczny oparty o peroksydazę (np. test EUROIMMUN Anty-SARS-CoV-2 ELISA).

Zalety testów EUROIMMUN Anty-SARS-CoV-2 ELISA (IgA, IgM, IgG)

- **Swoisty antygen.** Zapewnienie precyzyjnej detekcji przeciwciał w diagnostyce COVID-19 było głównym celem niemieckich ekspertów, którzy stworzyli zestaw testowy EUROIMMUN Anty-SARS-CoV-2 ELISA (IgA, IgG). Testy umożliwiają **wysokospecyficzne, półilościowe** oznaczenie przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2. Jako antygeny użyto **podjednostki S1 białka S** nowego koronawirusa. Nowością na rynku diagnostycznym są testy EUROIMMUN Anty-SARS-CoV-2-NCP ELISA (IgM, IgG) oparte o **modyfikowane białko nukleokapsydu** (ang. *nucleocapsid protein*, NCP), które jest unikalnym antygenem. W celu zapewnienia wysokiej specyficzności testów naukowcy z firmy EUROIMMUN usunęli fragmenty białka N, które mogą skutkować wysoką reaktywnością krzyżową przeciwciał przeciwko powszechnie występującym koronawirusom.



Rys. 3. Zestaw testowy EUROIMMUN Anty-SARS-CoV-2 ELISA (IgA).

- **Kompletny zestaw testowy.** Wszystkie odczynniki wraz z kalibratorem cut-off oraz kontrolą negatywną, jak również pozytywną są zawarte w zestawach testowych przeznaczonych do detekcji przeciwciał. **Zawarte w zestawie surowice kontrolne** pozwalają na weryfikację przebiegu procesu inkubacji bez ponoszenia dodatkowych kosztów i bez konieczności samodzielnego przygotowywania materiałów kontrolnych.



Rys. 4. EUROIMMUN Analyzer I.

- **Automatyzacja – powszechnie dostępne w polskich laboratoriach urządzenia.** Niewątpliwą zaletą testów firmy EUROIMMUN jest **możliwość automatyzacji badań** dostosowanej do potrzeb laboratorium: małe laboratoria mogą stosować **czytnik do mikropłytek** i wykonywać inkubację manualną bądź wykorzystywać automaty do inkubacji 16–32 próbek (**ELISIA**). Manualna procedura inkubacji testów ELISA jest prosta i intuicyjna, a badanie jest łatwe do wdrożenia. Większe laboratoria mają do dyspozycji urządzenia **ANALYZER I-2P** (1–3 mikropłytki), **ANALYZER I** (1–4 mikropłytki) lub **EUROLabWorkstation** (15 mikropłytek).
- **Długi termin ważności testów (6 miesięcy).** Po otwarciu testu płytka reakcyjna opłaszczona antygenem jest trwała 4 miesiące, a pozostałe reagenty są stabilne do wskazanej na opakowaniu daty ważności (6 miesięcy), jeśli są przechowywane w temperaturze od +2°C do +8°C. Dzięki dłu-

giemu terminowi ważności oraz możliwości optymalnego wykorzystania płytki mikrotitracyjnej z oddzielnie odłamywanymi studzienkami **ryzyko strat związanych z niewykorzystaniem odczynników jest minimalne** nawet w małym laboratorium medycznym.

- **Charakterystyka testu opracowana w oparciu o solidne i rozległe dane.** Czulość i specyficzność testów EUROIMMUN Anti-SARS-CoV-2 ELISA (IgA, IgG) zostały określone na podstawie badań licznych serii szczegółowo scharakteryzowanych surowic. W celu określenia specyficzności obu testów wykorzystano blisko **1250 surowic** uzyskanych **od różnych grup badanych**, w tym zarówno zdrowych dawców krwi, kobiet w ciąży, dzieci, jak i osób poddawanych szczepieniom na gripę lub z infekcjami wirusowymi. **Specyficzność testu EUROIMMUN, opartego o antygen S1, który jest przeznaczony do oznaczania przeciwciał anti-SARS-CoV-2 w klasie IgA, wynosi 92,4%, natomiast w klasie IgG – 99,6%.**
- **Certyfikaty.** Testy EUROIMMUN Anti-SARS-CoV-2 ELISA (IgA, IgG) jako jedne z pierwszych w Unii Europejskiej otrzymały **certyfikat CE-IVD**, dzięki czemu są już **od kilku miesięcy z powodzeniem wykorzystywane w diagnostyce medycznej** w wielu krajach na całym świecie, także w Polsce. Testy EUROIMMUN są również pierwszymi testami serologicznymi na rynku amerykańskim, które otrzymały **certyfikat EUA-FDA** po niezależnej i rygorystycznej ocenie.

Podsumowanie

Według wybitnych, światowych ekspertów, m.in. Redaktora Naczelnego „Science”, H. Holdena Thorpa, **testy serologiczne prowadzone na szeroką skalę są niezbędne do zrozumienia COVID-19** oraz stworzenia skutecznej metody walki z nowym koronawirusem [18]. Ze względu na bezobjawowy przebieg zakażenia, dzięki badaniom serologicznym możliwe będzie **określenie rzeczywistego rozpowszechnienia epidemii w Polsce** oraz przygotowanie strategii na ewentualną kolejną falę zakażeń. Poznanie **obecnego statusu serologicznego** poszczególnych osób umożliwi w przyszłości ich obserwację oraz potwierdzenie przypuszczeń dotyczących **zjawiska odporności** i jej utrzymywania się w czasie. Ta wiedza z kolei jest konieczna **do oceny skuteczności szczepień**, na które tak bardzo liczymy. Prowadząc szeroko zakrojone badania serologiczne dziś – za rok będziemy dysponować bezcennymi danymi, dzięki którym możliwe będzie podejmowanie racjonalnych decyzji w obliczu powracającej pandemii. ●

Piśmiennictwo

1. World Health Organization, *Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance*, 19 March 2020, <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331501>.
2. Zhao J. i wsp., *Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019*, *Clinical Infectious Diseases*, 28 March 2020, <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>.
3. Liu L. i wsp., *A preliminary study on serological assay for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in 238 admitted hospital patients*, medRxiv (Preprint), 8 March 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.06.20031856>.
4. Cunningham-Rundles C., *Physiology of IgA and IgA deficiency*, *Journal of Clinical Immunology*, 2001, 21 (5): 303–309, <https://doi.org/10.1023/a:1012241117984>.
5. Amanat F. i wsp., *A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans*, *Nature Medicine*, 2020, <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0913-5>.
6. Padoan A. i wsp., *IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: A longitudinal study*, *Clinica Chimica Acta*, 2020, 507: 164–166, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.04.026>.
7. Okba N.M.A. i wsp., *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 – Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients*, *Emerging Infectious Diseases*, 2020, 26 (7), <https://doi.org/10.3201/eid2607.200841>.
8. *Mikrobiologia*, red. P. Murray i wsp., Edra Urban & Partner, 2018, 9: 78–81.
9. Furst D.E., *Serum Immunoglobulins and Risk of Infection: How Low Can You Go?*, *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 2009, 39 (1): 18–29, <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2008.05.002>.
10. Bao L. i wsp., *Lack of Reinfection in Rhesus Macaques Infected with SARS-CoV-2*, bioRxiv (Preprint), 1 May 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.13.990226>.
11. Jiang S. i wsp., *Neutralizing Antibodies against SARS-CoV-2 and Other Human Coronaviruses*, *Trends in Immunology*, 2020, 41 (5): 355–359, <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.03.007>.
12. Zhou G., Zhao Q., *Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2*, *International Journal of Biological Sciences*, 2020, 16 (10): 1718–1723.
13. Lu R. i wsp., *Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding*, *Lancet*, 2020, 395 (10224): 565–574.
14. Kevin Ng. i wsp., *Pre-existing and de novo humoral immunity to SARS-CoV-2 in humans*, medRxiv (Preprint), 15 May 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.05.14.095414>.
15. Yu S. i wsp., *Retrospective Serological Investigation of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Antibodies in Recruits from Mainland China*, *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 2005, 12 (4): 552–554, <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.4.552-554.2005>.
16. Streeck H. i wsp., *Infection fatality rate of SARS-CoV-2 infection in a German community with a super-spreading event*, medRxiv (Preprint), 8 May 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.05.04.20090076>.
17. Thomas S.J. i wsp., *Dengue plaque reduction neutralization test (PRNT) in primary and secondary dengue virus infections: How alterations in assay conditions impact performance*, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2009, 81 (5): 825–833, <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2009.08-0625>.
18. Vogel G., *These are answers we need. WHO plans global study to discover true extent of coronavirus infections*, *American Association for the Advancement of Science*, 2 April 2020, <https://doi.org/10.1126/science.abc0458>.

REKLAMA

Testy EUROIMMUN Anty-SARS-CoV-2 ELISA (IgA, IgM, IgG)



Precyzyjna detekcja przeciwciał w diagnostyce COVID-19

Wysokospecyficzne oznaczenie: detekcja przeciwciał przeciwko podjednostce **S1 białka strukturalnego S SARS-CoV-2** (IgA, IgG)

Niezawodność i zaufanie: badanie wykonywane w wielu laboratoriach na całym świecie

Ocena fazy choroby: badanie przeciwciał klasy IgA, IgM (wczesne stadium) lub IgG (pamięć immunologiczna)

Wysoka przepustowość dzięki pełnej automatyzacji badania

Bezpłatna promocja laboratorium w wyszukiwarce oraz ulotki dla pacjentów



CoV-2.PL



● dr n. prawn. Maciej Niezabitowski
adwokat
koordynator Zespołu Prawnego KIDL

OPINIA PRAWNA

DOTYCZĄCA DODATKOWYCH ŚWIADCZEŃ PIENIĘŻNYCH DLA DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH ZA PRACĘ W PLACÓWKACH ZAJMUJĄCYCH SIĘ PACJENTAMI ZAKAŻONYMI LUB PODEJRZEWANYMI O ZAKAŻENIE WIRUSEM SARS-COV-2

Opinia została sporządzona na wniosek Prezesa Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych w związku z nieprzyznawaniem diagnostom laboratoryjnym dodatkowych świadczeń pieniężnych za pracę wyłącznie w placówkach zajmujących się pacjentami zakażonymi lub podejrzanymi o zakażenie wirusem SARS-CoV-2 z powodu uznawania, że nie są osobami wykonującymi zawód medyczny, mającymi bezpośredni kontakt z pacjentami.

Przedmiot opinii

Przedmiotem opinii jest ustalenie, czy diagnosta laboratoryjny wykonujący czynności diagnostyki laboratoryjnej na materiale biologicznym pobranym od pacjenta zakażonego lub podejrzanego o zakażenie wirusem SARS-CoV-2 jest osobą wykonującą zawód medyczny objętą rygiem regulowanym art. 7d ustawy z dnia 2 marca 2020 r. o szczególnych rozwiązaniach związanych z zapobieganiem, przeciwdziałaniem i zwalczaniem COVID-19, innych chorób zakaźnych oraz wywołanych nimi sytuacji kryzysowych (dalej: ustawa o COVID) tj. osobą niemogącą udzielać świadczeń opieki zdrowotnej pacjentom innym niż z podejrzeniem lub zakażeniem wirusem SARS-CoV-2, a tym samym uprawnioną do otrzymania dodatkowych świadczeń pieniężnych.

Stan prawny

Minister Zdrowia na podstawie delegacji ustawowej wynikającej z art. 7d ustawy COVID wydał w dniu 28 kwietnia 2020 r. rozporządzenie w sprawie standardów w zakresie ograniczeń przy udzielaniu świadczeń opieki zdrowotnej pacjentom innym niż z podejrzeniem lub zakażeniem wirusem SARS-CoV-2 przez osoby wykonujące zawód medyczny mające bezpośredni kontakt z pacjentami z podejrzeniem lub zakażeniem tym wirusem (dalej: rozporządzenie o ograniczeniach). Zgodnie z literalnym brzmieniem §1 rozporządzenia kierownik podmiotu leczniczego

umieszczonego w wykazie, o którym mowa w art. 7 ust. 1 ustawy o COVID, wykonującego działalność leczniczą w rodzaju świadczenia szpitalne:

- 1) wyłącznie w związku z przeciwdziałaniem COVID-19 lub
- 2) w którego wyodrębnionej komórce organizacyjnej są udzielane świadczenia opieki zdrowotnej wyłącznie w związku z przeciwdziałaniem COVID-19 – opracowuje wykaz stanowisk pracy, na których osoby wykonujące zawód medyczny w rozumieniu art. 2 ust. 1 pkt 2) ustawy z dnia 15 kwietnia 2011 r. o działalności leczniczej (dalej: ustawa o działalności leczniczej) mają bezpośredni kontakt z pacjentami z podejrzeniem lub zakażeniem wirusem SARS-CoV-2, w tym uczestniczą w ich transporcie, zwany dalej „wykazem stanowisk”.

Zgodnie z brzmieniem art. 2 ust. 1 pkt 2) ustawy o działalności leczniczej osobą wykonującą zawód medyczny jest osoba uprawniona podstawie odrębnych przepisów do udzielania świadczeń zdrowotnych oraz osoba legitymująca się nabyciem fachowych kwalifikacji do udzielania świadczeń zdrowotnych w określonym zakresie lub w określonej dziedzinie medycyny.

W wykazie stanowisk o którym mowa powyżej umieszcza się wszystkie stanowiska pracy, na których osoby wykonujące zawód medyczny uczestniczą w udzielaniu świadczeń zdrowotnych i mają bezpośredni kontakt z pacjentami z podejrzeniem lub zakażeniem wirusem SARS-CoV-2, a w przypadku podmiotu, o którym mowa w ust. 1 pkt 2), wyłącznie stanowiska pracy, na których osoby wykonujące zawód medyczny uczestniczą w udzielaniu świadczeń opieki zdrowotnej w wyodrębnionej komórce organizacyjnej i mają bezpośredni kontakt z pacjentami z podejrzeniem lub zakażeniem wirusem SARS-CoV-2.

Minister Zdrowia uznał, że osoby uczestniczące w udzielaniu świadczeń opieki zdrowotnej na stanowiskach określonych w wykazie stanowisk nie mogą uczestniczyć w udzielaniu świadczeń opieki zdrowotnej pacjentom innym niż z podejrzeniem lub zakażeniem wirusem SARS-CoV-2.



Z literalnego brzmienia treści rozporządzenia wynika, że ograniczenie to nie dotyczy udzielania świadczeń opieki zdrowotnej niewymagających bezpośredniego kontaktu z tymi pacjentami, w szczególności udzielania tych świadczeń za pośrednictwem systemów teleinformatycznych lub systemów łączności.

Zgodnie z poleceniem Ministra Zdrowia z 29 kwietnia 2020 r. kierowanym do Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia (wydanym na podstawie art. 10a ust. 1 ustawy o COVID w zw. z rozporządzeniem o ograniczeniach) osoby objęte ograniczeniem o którym mowa w art. 7d ustawy COVID, mają otrzymywać dodatkowe świadczenia pieniężne pochodzące ze środków z budżetu państwa, które mają być wypłacane miesięcznie, przez okres objęcia ograniczeniem. Z treści uzasadnienia do polecenia wynika, że ma ono na celu przynajmniej częściowe zrekompensowanie utraty możliwości zarobkowania, co ma na celu utrzymanie stanu liczbowego kadry medycznej najbardziej istotnej z punktu widzenia przeciwdziałania COVID-19. Ma również ograniczyć różnice w warunkach wynagradzania osób zatrudnionych na stałe w podmiocie leczniczym umieszczonym na liście, o której mowa w art. 7 ustawy z dnia 2 marca 2020 r. z osobami skierowanymi do niego decyzją wojewody w trybie art. 47 ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi.

Mając na względzie ww. normy prawne pojawiły się wątpliwości w zakresie dopuszczalności uznania diagnostyki laboratoryjnej wykonującej czynności diagnostyki laboratoryjnej na materiale biologicznym pobranym od pacjenta zakażonego lub podejrzanego o zakażenie wirusem SARS-CoV-2 (w medycznym laboratorium diagnostycznym) za osobę wykonującą zawód medyczny objęty ograniczeniami wynikającymi z art. 7d ustawy o COVID, a tym samym, jako osobę, której należy wypłacić dodatkowe świadczenia pieniężne pochodzące z budżetu państwa.

Przyczyną powyższego jest nieuznawanie kontaktu z materiałem biologicznym (materiałem zakaźnym) pobranym bezpośrednio od pacjenta zakażonego lub podejrzanego o zakaże-

nie wirusem SARS-CoV-2 za „bezpośredni kontakt z pacjentem”. Podkreślić należy, że nie istnieje żadna norma prawna, w której literalnie zostało zdefiniowane pojęcie „bezpośredniego kontaktu z pacjentem”. Brak definicji legalnej przyczynił się do problemów z prawidłowym stosowaniem tego przepisu (wyłącznie literalnym) i w konsekwencji koniecznością dokonywania wykładni. Wykładni w tym zakresie dokonał Minister Zdrowia w piśmie z dnia 29 kwietnia 2020 r. przesłanym do kierujących podmiotami ochrony zdrowia, w którym stwierdził, że regulacje o których mowa powyżej dotyczą również osób mających kontakt z materiałem zakaźnym.

Tożsame stanowisko z Ministrem Zdrowia zajął Konsultant Krajowy w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej w piśmie z dnia 5 czerwca 2020 r. kierowanym do Prezesa Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych. Konsultant Krajowy wskazał, że materiał biologiczny, który trafia do badania w medycznych laboratoriach diagnostycznych stanowi część ciała ludzkiego i kontakt z nim należy traktować, jak bezpośredni kontakt z pacjentem. Kontakt z tym materiałem stanowi bezpośrednie zagrożenie personelu medycznego laboratorium diagnostycznego zakażeniem wirusem SARS-CoV-2 tak jak personelu pracującego w pobliżu zakażonego pacjenta. Konkludując Konsultant Krajowy w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej, uznał że z całą stanowczością należy stwierdzić, że stopień zagrożenia narażenia personelu medycznych laboratoriów diagnostycznych za zakażenie wirusem SARS-CoV-2 jest porównywalny z narażeniem na zakażenie personelu pracującego przy pacjencie.

Analogiczne wnioski wynikają ze stanowiska Konsultanta Krajowego w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej przesłanego w dniu 8 czerwca 2020 r. do Prezesa Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych. Konsultant uznał, że zarówno bezpośredni kontakt z pacjentem jak i jego materiałem biologicznym może stwarzać ryzyko zakażenia zarówno dla personelu zaangażowanego w bezpośrednią opiekę nad chorym jak i dla pracowników medycznego laboratorium diagnostycznego. Ryzyko to jest

największe w trakcie medycznych i laboratoryjnych procedur związanych z generowaniem aerozolu zawierającego materiał biologiczny chorego (zwłaszcza z dróg oddechowych). Ryzyko dla personelu medycznych laboratoriów diagnostycznych jest porównywalne do ryzyka personelu zaangażowanego w bezpośrednią opiekę nad chorym.

Tożsamość stanowisko zajęła Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych w piśmie z dnia 21 kwietnia 2020 r. w którym podkreślono, że kontakt z patogenem, nie zaś z samą osobą nosiciela patogenu stanowi ryzyko zakażenia. Osoby zajmujące się wykonywaniem czynności diagnostyki laboratoryjnej są zatem nie mniej narażone na negatywne skutki zakażenia jak osoby mające bezpośredni kontakt z osobą, w tym również mogą również stanowić źródło rozprzestrzeniania się wirusa.

Ponadto podkreślić należy, że diagności laboratoryjni uprawnieni są do wykonywania czynności polegających na pobieraniu od pacjenta materiału do badań laboratoryjnych, także i w kierunku wykrycia wirusa SARS-CoV-2 (na mocy: rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 3 listopada 2004 r. w sprawie wykazu zabiegów i czynności polegających na pobraniu od pacjenta materiału do badań laboratoryjnych). Jest to bez wątpienia bezpośredni kontakt z pacjentem.

Konsultant Krajowy w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej wskazuje, że pracownicy wielu laboratoriów sami w bezpośrednim kontakcie pobierają krew i inne materiały od pacjentów, co nie różni ich zagrożenia od zagrożenia pielęgniarek i lekarzy pracujących z tymi pacjentami.

Wnioski

Mając na względzie powyższą analizę należy stwierdzić, że kontakt diagnosty laboratoryjnego wykonującego czynności diagnostyki laboratoryjnej w medycznym laboratorium diagnostycznym, na materiale biologicznym (materiale zakaźnym) pobranym od pacjenta zakażonego lub podejrzanego o zakażenie wirusem SARS-CoV-2 należy utożsamiać z bezpośrednim kontaktem z pacjentem w świetle obowiązujących norm prawnych.



W związku z powyższym, diagności laboratoryjni:

- a) wykonujący czynności diagnostyki laboratoryjnej na materiale biologicznym pobranym od pacjenta zakażonego lub podejrzanego o zakażenie wirusem SARS-CoV-2;
- b) pobierający materiał biologiczny do badań laboratoryjnych od pacjentów zakażonych lub podejrzanego o zakażenie wirusem SARS-CoV-2; w podmiotach o których mowa w §1 ust. 1 pkt 1–2 rozporządzenia o ograniczeniach podlegają ograniczeniom wynikającym z art. 7d ustawy o COVID i dlatego powinni otrzymywać dodatkowe świadczenia pieniężne pochodzące ze środków pochodzących z budżetu państwa o których mowa w poleceniu Ministra Zdrowia z dnia 29 kwietnia 2020 r. ●

Materiały źródłowe

1. Ustawa z dnia 27 lipca 2001 r. o diagnostyce laboratoryjnej (Dz. U. z 2019 r. poz. 849, z 2020 r. poz. 567).
2. Ustawa z dnia 15 kwietnia 2011 r. o działalności leczniczej (Dz. U. z 2020 r. poz. 295, 567).
3. Ustawa z dnia 2 marca 2020 r. o szczególnych rozwiązaniach związanych z zapobieganiem, przeciwdziałaniem i zwalczaniem COVID-19, innych chorób zakaźnych oraz wywołanych nimi sytuacji kryzysowych (Dz. U. z 2020 r. poz. 374, 567, 568, 695, 875).
4. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 28 kwietnia 2020 r. w sprawie standardów w zakresie ograniczeń przy udzielaniu świadczeń opieki zdrowotnej pacjentom innym niż z podejrzeniem lub zakażeniem wirusem SARS-CoV-2 przez osoby wykonujące zawód medyczny mające bezpośredni kontakt z pacjentami z podejrzeniem lub zakażeniem tym wirusem (Dz.U. 2020 r. poz. 775 ze zm.).
5. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 3 listopada 2004 r. w sprawie wykazu zabiegów i czynności polegających na pobraniu od pacjenta materiału do badań laboratoryjnych (Dz.U. 2004 nr 247 poz. 2481).
6. Polecenie Ministra Zdrowia z dnia 29 kwietnia 2020 r. kierowane do Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia.
7. Pismo Ministra Zdrowia z dnia 29 kwietnia 2020 r. kierowane do kierujących podmiotami ochrony zdrowia.
8. Stanowisko Konsultanta Krajowego w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej z dnia 5 czerwca 2020 r. kierowane do Prezesa Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych.
9. Stanowisko Konsultanta Krajowego w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej z dnia 8 czerwca 2020 r. kierowane do Prezesa Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych.
10. Uwagi Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych do projektu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie standardów w zakresie ograniczeń przy udzielaniu świadczeń opieki zdrowotnej pacjentom innym niż z podejrzeniem lub zakażeniem wirusem SARS-CoV-2 przez osoby wykonujące zawód medyczny mające bezpośredni kontakt z pacjentami z podejrzeniem lub zakażeniem tym wirusem z dnia 21 kwietnia 2020 r.



● mgr Marta Kowal
diagnosta laboratoryjny
Szpital Wojewódzki im. Św. Łukasza w Tarnowie

OBRAZ KOMÓRKOWY MOCZU W TĘPYM URAZIE PĘCHERZA MOCZOWEGO

W artykule zaprezentowane są zmiany w obrazie komórkowym moczu wywołane tępym urazem pęcherza moczowego. Badanie ogólne moczu wykonywane przez kilka kolejnych dni po wypadku wykazało pojawienie się w osadzie erytrocytów izomorficznych, makrofagów, erytrofagów oraz komórek nabłonka urotelialnego. Materiał fotograficzny powstał podczas rutynowego badania i obejmuje zdjęcia osadu moczu wykonane przy pomocy mikroskopu świetlnego wyposażonego w kamerę cyfrową.

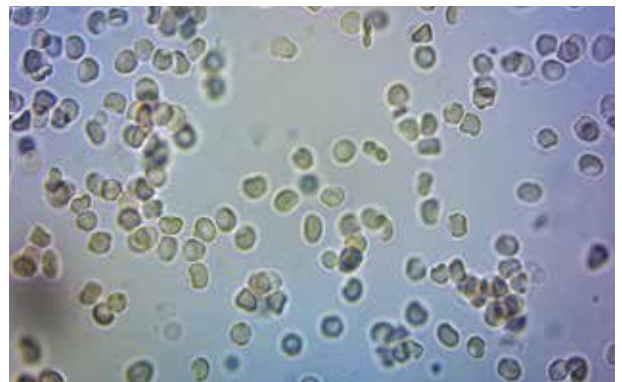
Wprowadzenie

Pomimo, że urazy pęcherza są rzadkie i zazwyczaj łagodne, mogą powodować wystąpienie wczesnych oraz późnych następstw (np. sepsa, zapalenie otrzewnej, zaburzenia elektrolitowe i inne). Najczęstsze przyczyny tępego urazu to uderzenie lub przygniecenie, które mogą wystąpić podczas wypadku komunikacyjnego, z powodu upadku z wysokości, podczas gier, zabaw i zajęć sportowych. Najczęstszymi urazami pęcherza jest stłuczenie pęcherza oraz nieznaczne zranienia bez wycieku moczu. Jednak nawet w tych najłagodniejszych przypadkach mamy do czynienia z krwinkomoczem lub krwiomoczem, który występuje u większości poszkodowanych, chociaż nie jest bezpośrednim wyznacznikiem ciężkości urazu. W procesie naprawczym obserwujemy występowanie w osadzie moczu makrofagów, erytrofagów i komórek urotelium. Niekiedy te elementy są trudne do zidentyfikowania w niebarwionym osadzie moczu. W celu lepszego uwidocznienia szczegółów morfologicznych obserwowanych elementów można zastosować barwienie osadu moczu np. barwienie MGG lub odczynnikiem Lugola.

Opis przypadku

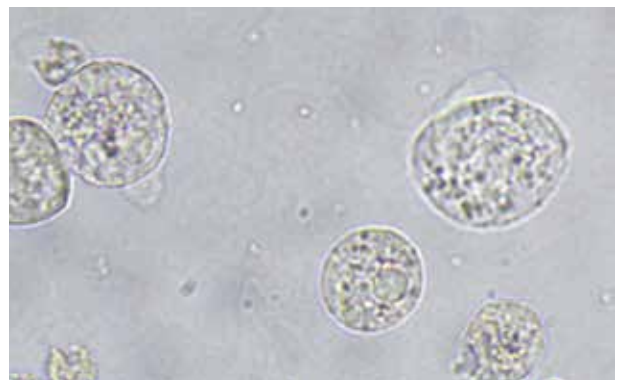
Chłopiec w wieku 6 lat został przyjęty do szpitalnego oddziału ratunkowego z podejrzeniem urazu brzucha z powodu upadku z huśtawki. Pacjent skarżył się na ból podbrzusza. Wykonano szereg badań obrazowych brzucha (RTG, USG) oraz badania diagnostyczne krwi: morfologia, CRP, potas, glukoza, mocznik, kreatynina, aminotransferazy ALAT i ASPAT, amylaza, LDH a także badanie ogólne moczu.

Nie wykazano odchyień w badaniach krwi oraz w badaniach obrazowych natomiast w badaniu ogólnym moczu wykonanym około 4 godzin po urazie stwierdzono białkomocz (497 mg/dL) oraz krwiomocz – erytrocyty izomorficzne (w większości świeże) powyżej 100 w polu widzenia (fot. 1). W kontekście powyższych badań, pojawiło się podejrzenie stłuczenia pęcherza moczowe-

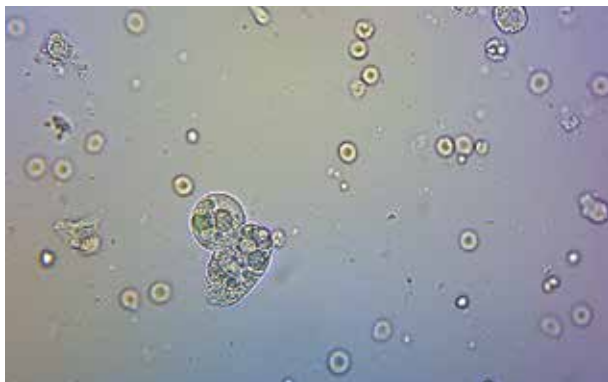


Fot. 1. Liczne świeże erytrocyty, mikroskop świetlny, pow. 600 x, ok. 4 godz. po urazie.

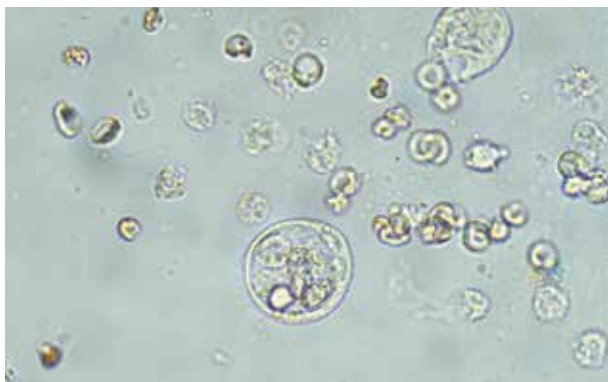
go. Po około 13 godzinach wykonano badanie kontrolne moczu, w którym stwierdzono oprócz licznych świeżych erytrocytów także makrofagi, erytrofagi oraz nieliczne leukocyty (fot. 2–4). Następne badanie moczu zostało wykonane po ok. 28 godzinach, w osadzie pojawiły się komórki nabłonka urotelialnego pojedyn-



Fot. 2. Liczne makrofagi, w dwóch widoczne jądra, w pozostałych niewidoczne z powodu ziarnistości, mikroskop świetlny, pow. 400 x, ok. 13 godz. po urazie.

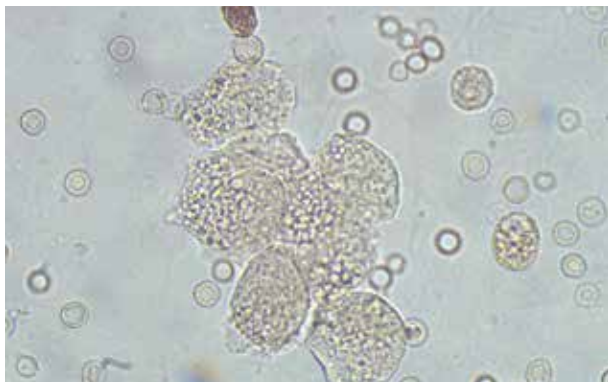


Fot. 3. Erytrocyty świeże, w dolnej części dwa erytrofagi, mikroskop świetlny, pow. 400 x, ok. 13 godz. po urazie.

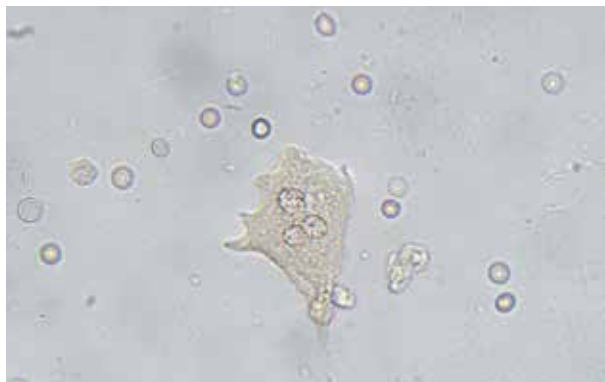


Fot. 4. Erytrocyty w większości świeże, nieliczne leukocyty, w części centralnej erytrofag, mikroskop świetlny, pow. 600 x, ok. 13 godz. po urazie.

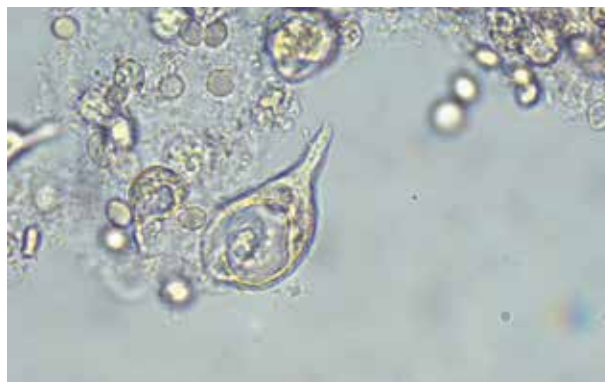
cze i w płatach (fot. 5). Kolejne badania moczu tj. po ok. 48 i 62 godzinach wykazały obecność komórek nabłonka urotelialnego a zwłaszcza znacznej ilości komórek baldaszkowatych (fot. 6–8). W czwartym dniu po wypadku wykonano badanie cytologiczne osadu moczu w zakładzie patomorfologii. Ekspertyza cytopatologiczna, która wykazała obecność komórek nabłonka urotelialnego w części z cechami pobudzenia w części uszkodzenia oraz histiocyty i makrofagi potwierdziła podejrzewane stłuczenie pęcherza w wyniku tępego urazu.



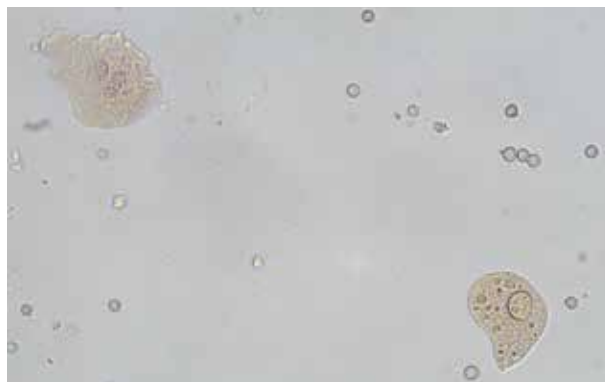
Fot. 5. Erytrocyty w większości świeże, w części centralnej płat komórek urotelialnych z licznymi ziarnistościami oraz drobnymi wakuolami, mikroskop świetlny, pow. 600 x, ok. 28 godz. po urazie.



Fot. 6. Erytrocyty świeże, pojedyncze leukocyty, w części centralnej wielojądrowa komórka nabłonka urotelialnego tzw. komórka baldaszkowata, mikroskop świetlny, pow. 400 x, ok. 48 godz. po urazie.



Fot. 7. Erytrocyty świeże i wylugowane, w części centralnej komórka nabłonka urotelialnego z dużą wakuolą, mikroskop świetlny, pow. 600 x, ok. 48 godz. po urazie.



Fot. 8. Erytrocyty świeże i wylugowane oraz dwie komórki nabłonka urotelialnego, komórka w dolnym rogu z licznymi ziarnistościami, mikroskop świetlny, pow. 200 x, ok. 62 godz. po urazie.

Omówienie

Pęcherz u dzieci jest mniej chroniony niż u dorosłych z powodu słabiej rozwiniętej tkanki tłuszczowej i mięśniowej. Częstym objawem jest krwiomocz makroskopowy lub krwinkomocz mikroskopowy. W omawianym przypadku badanie ogólne moczu, wykonane w ciągu kilku kolejnych dni, pokazało zmiany komórkowe osadu moczu wywołane urazem pęcherza moczowego a następnie procesem naprawczym. Pierwsze badanie ogólne moczu dało obraz krwiomoczu. W dalszych analizach pojawiły się, oprócz

krwinkomoczu, rzadziej spotykane i niekiedy sprawiające trudności w identyfikacji komórki: makrofagi, erytrofagi oraz komórki nabłonka urotelialnego.

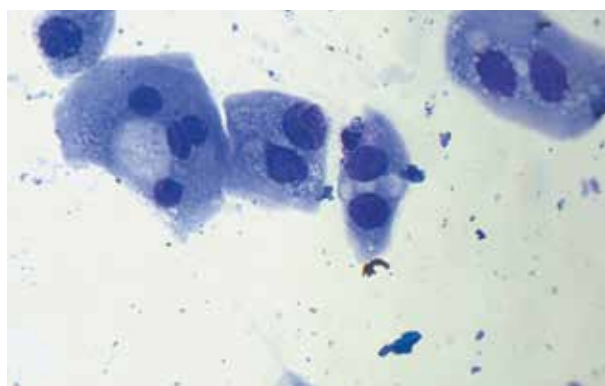
Makrofagi występujące w moczu są komórkami wykazującymi zdolność fagocytozy bakterii, wirusów, krwinek czerwonych i białych oraz substancji organicznych (np. tłuszczu lub pochodnych hemoglobiny). W niebarwionym osadzie moczu małe makrofagi, wielkością są zbliżone do leukocytów i mogą być łatwo z nimi pomyłone. Tym bardziej, że posiadając ziarnistości zawierające esterase dają dodatnią reakcję dla leukocytów w chemicznych testach skryningowych. Większe makrofagi mogą być trudne do odróżnienia od komórek kanalików nerkowych. Makrofagi często występują w stanach zapalnych układu moczowego a także niekiedy w krwimoczach różnego pochodzenia. Jeżeli zawierają sfagocytowane erythrocyty mamy do czynienia z erytrofagami. W zespole nerczycowym możemy napotkać makrofagi, które czynnie fagocytują lipidy. Takie obciążone tłuszczem komórki nazywamy owalnymi ciałami tłuszczowymi [ang. *oval fat bodies*].

Komórki nabłonka urotelialnego pojawiają się w moczu w wyniku działania różnych czynników powodujących ich złuszczenie. Takimi czynnikami mogą być: stan zapalny, uraz, proces nowotworowy i inne. Komórki nabłonka urotelialnego mają zróżnicowaną morfologię i budują wielowarstwową błonę (urotelium), która rozciąga się od miedniczki nerkowej do cewki moczowej. Błona urotelialna pokrywa prawie całkowicie wewnętrzną część pęcherza moczowego i ma bezpośredni kontakt z moczem. Wyjątkowa budowa decyduje o szczelności, integralności i plastyczności urotelium, zapobiega rozerwaniu ścian pęcherza moczowego podczas gromadzenia się w nim moczu oraz chroni głębiej położone warstwy pęcherza moczowego przed jego toksycznymi składnikami. Najbardziej powierzchniową warstwę, będącą w bezpośrednim kontakcie z moczem, stanowią duże, dwu- lub wielojądrowe komórki baldaszkowate [ang. *umbrella cells*], które tworzą nieprzepuszczalną barierę oddzielającą przestrzeń moczową od leżących pod nią komórek. Komórki baldaszkowate mają zdolność zmiany kształtu w zależności od stopnia wypełnienia pęcherza moczem. Biorą czynny udział w procesach regeneracyjnych zarówno powierzchniowych jak i głębszych uszkodzeń pęcherza moczowego.

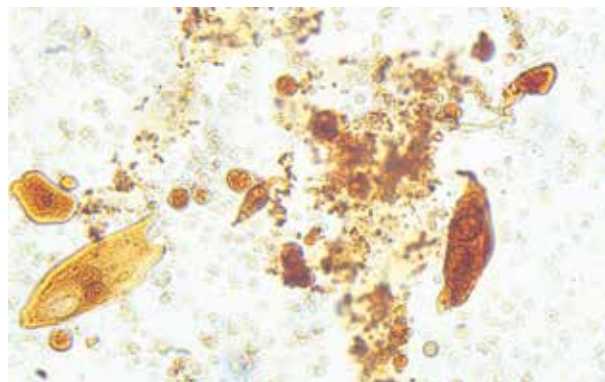
Podsumowanie

Wszelkie urazy pęcherza moczowego powinny być szybko rozpoznane aby zapobiec poważnym powikłaniom z powodu wycieku moczu. Cystografia i/lub cystoskopia a także w pewnych

przypadkach tomografia pozwalają na wykrycie oraz określenie stopnia uszkodzenia. Analiza moczu stanowi uzupełnienie badań obrazowych poprzez uwidocznienie zmian morfotycznych osadu moczu wywołanych urazem pęcherza moczowego. Hematuria i towarzyszące jej makrofagi, erytrofagi i komórki baldaszkowate urotelium są sygnałem uszkodzenia oraz procesu naprawczego. Badanie ogólne moczu w tym kontekście staje się rutynowym badaniem wstępnej oceny obrażeń. Niekiedy różnicowanie i klasyfikacja komórek rzadko występujących w moczu może stanowić trudność. W takim przypadku zastosowanie mikroskopu kontrastowo-fazowego lub barwienie osadu może ułatwić identyfikację [fot. 9 i 10]. ●



Fot. 9. Komórki baldaszkowate 1–4 jądrowe, barwienie osadu metodą MGG, mikroskop świetlny, pow. 400 x.



Fot. 10. Komórki baldaszkowate, osad zabarwiony odczynnikiem Lugola, mikroskop świetlny, pow. 400 x.

Piśmiennictwo

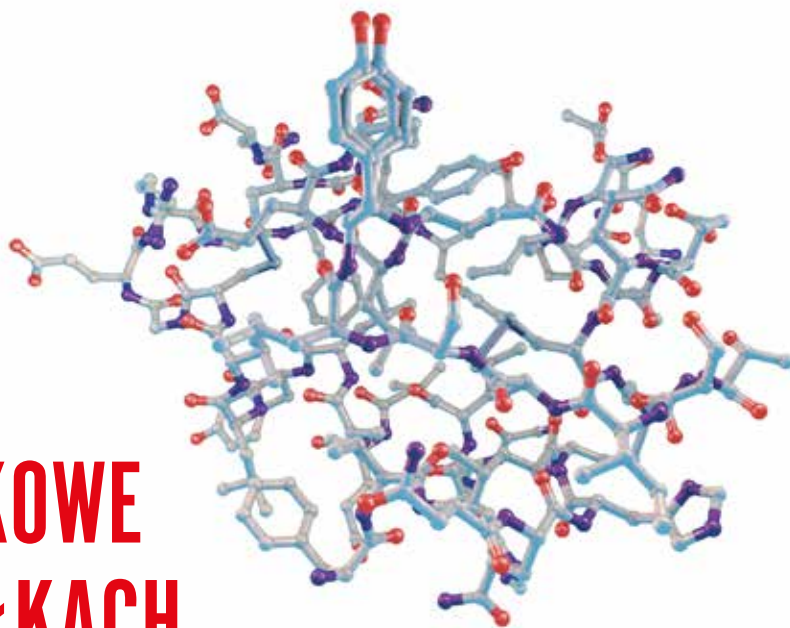
1. Brunzel N.A.: *Diagnostyka laboratoryjna. Nerka i badania laboratoryjne moczu*. Elsevier Urban & Partner, Wrocław; 2010: 43–45, 105–119, 125–171.
2. Fogazzi G.B., Garigali G.: *The clinical art and science of urine microscopy*. December 2003 Current Opinion in Nephrology and Hypertension 12(6):625–32.
3. Nazimek K., Bryniarski K.: *Aktywność biologiczna makrofagów w zdrowiu i chorobie*. Postepy Hig Med Dosw (online), 2012; 66: 507–520.
4. Mahat Y., Leong Y., Chung P.H.: *A contemporary review of adult bladder trauma*. J Inj Violence Res. 2019 July; 11(2): 101–106.doi: 10.5249/ jivr.v11i2.1069.
5. Maruhashi Y., Nakajima M., Akazawa H.: *Analysis of macrophages in urine sediments in children with IgA nephropathy*. Clin Nephrol. 2004 Nov; 62(5):336–43.
6. Muacevic A., Adler J.R.: *Painless Visible Haematuria in Adults: An Algorithmic Approach Guiding Management Cureus*. 2019 Nov; 11(11): e6140. Published online 2019 Nov 13. doi: 10.7759/cureus.6140.
7. Urbanowicz W., Wolnicki M., Sulisławski J., Mycek R.: *Postępowanie i wyniki leczenia w przypadkach urazów nerek u dzieci w latach 1992–2006*. Urologia Polska 2008/61/1.
8. Khandelwal P., Abraham S.N., Apodaca G.: *Cell biology and physiology of the uroepithelium*. Am J Physiol Renal Physiol. 2009 Dec; 297(6): F1477–F1501. Published online 2009 Jul 8. doi: 10.1152/ajprenal.00327.2009.

● dr n. med. Natalia Grzegorzak

KORLAB Laboratoria Medyczne,
ul. Solskiego 15, 41-703 Ruda Śląska

● mgr Beata Janiga

Szpital Murcki Sp. z o. o., Laboratorium,
ul. Sokołowskiego 2, 40-749 Katowice



WYSPY TRZUSTKOWE W MIKROKAPSUŁKACH

NOWE MOŻLIWOŚCI LECZENIA CUKRZYCY TYPU 1

Cukrzyca typu 1 stanowi około 10% wszystkich przypadków cukrzycy na świecie. W przebiegu choroby proces autoimmunologiczny doprowadza do zniszczenia komórek β wysp trzustkowych, produkujących insulinę i prowadzi do jej niedoboru powodując hiperglikemię.

Najczęściej cukrzycę typu 1 rozpoznaje się u osób przed 30. rokiem życia. Leczenie oparte jest na podawaniu dożywno insulinę w postaci iniekcji. Stosuje się dwa rodzaje insulin: krótkodziałającą podawaną przed posiłkami oraz długodziałającą podawaną raz na dobę. Działania te są konieczne, gdyż nieleczona cukrzyca jest chorobą śmiertelną. Ponadto chorzy muszą monitorować stężenie glukozy we krwi, by nie dopuścić do hipoglikemii. Stężenie glukozy u pacjentów z cukrzycą balansuje pomiędzy tymi dwoma stanami, a chorzy podając insulinę starają się naśladować prawidłowo działającą endokrynną część trzustki. Jednak choroba obniża jakość życia pacjentów, gdyż aktywność fizyczna, stres i inne czynniki wpływając na gospodarkę glukozą utrudniają oszacowanie odpowiedniej ilości insuliny, a częste iniekcje i nakłucia palców powodują dyskomfort [1].

Alternatywą dla konwencjonalnego leczenia cukrzycy jest przeszczep izolowanych wysp trzustkowych od dawcy. Niestety wadą takiego przeszczepu jest konieczność długotrwałego podawania leków immunosupresyjnych zapobiegających odrzuceniu przeszczepu. Taka terapia osłabia mechanizmy obronne układu odpornościowego pacjenta i pociąga za sobą poważne komplikacje medyczne. Aby uniknąć tego problemu można wyspy trzustkowe

izolować od układu odpornościowego pacjenta za pomocą technik mikrokapsułkowania. Mikrokapsułki wykonane są z biokompatybilnych materiałów, najczęściej z alginianu. Jednakże technika ta ma pewne ograniczenia techniczne, które utrudniają jej zastosowanie kliniczne. Istotnym problemem jest duża liczba pustych mikrokapsułek generowanych podczas procesu mikrokapsułkowania, co prowadzi do dużego wzrostu objętości mikrokapsułek do wszczepienia, co może zwiększyć reakcję immunologiczną gospodarza po przeszczepie [2].

Opracowano więc system oddzielający mikrokapsułki. Łączy on technologię opartą na magnetycznych nanocząstkach i mikroprzepływowym układzie scalonym. Stworzono chip z kanałami o rozmiarze mikrometrycznym, wytwarzany za pomocą technik druku 3D, zawierający strategicznie rozmieszczone magnesy. Aby odróżnić mikrokapsułki zawierające wyspy trzustkowe od pustych, w pierwszym etapie łączy się wyspy z magnetycznymi nanocząsteczkami. Następnie wysepki są mikrokapsułkowane, dzięki czemu otrzymuje się kapsułki o właściwościach magnetycznych zawierające wysepki trzustkowe i niemagnetyczne puste kapsułki. Kiedy mikrokapsułki są pompowane przez kanały mikroukładu, magnesy przesuwają kapsułki magnetyczne w kierunku

ku jednego mikrokanalika wyjściowego, a puste mikrokapsułki w kierunku innego. Duża skuteczność oczyszczania tego magnetycznego systemu separacji pozwoliła zmniejszyć objętość implantu o prawie 80%, zmniejszając w ten sposób komplikacje wynikające z wszczepiania dużych objętości mikrokapsulek [2].

Ponadto zbadano funkcjonalność oczyszczonych implantów w modelach zwierzęcych z cukrzycą. Okazało się, że po podskórnym wszczepieniu mikrokapsulek u zwierząt z cukrzycą, stężenie glukozy we krwi wróciło do normy i utrzymywało się w tym zakresie przez prawie 17 tygodni [2].

Wnioski jakie uzyskali badacze są obiecujące i stanowią kolejny krok do opracowania lepszych metod leczenia cukrzycy typu 1. W chwili obecnej trwają bardzo intensywne badania mające na celu poprawę jakości życia osób z cukrzycą, związane głównie z rozwojem coraz lepszych przyrządów pomiarowych [3], systemów ciągłego monitorowania glikemii [4], pomp insulinowych [5], plastrów [6] czy pigułek z insuliną [7] oraz aplikacji na smartfony ułatwiających życie chorym z cukrzycą [8]. Drugim ważnym elementem są badania związane z rozwojem transplantologii: przeszczep trzustki [9], wysp trzustkowych [10], autoprzeszczepienie szpiku, komórek macierzystych [11] czy też terapia komórkami T-regulatorowymi [12], a wreszcie prace nad stworzeniem bionicznej trzustki przy pomocy druku 3D [13]. ●

Piśmiennictwo

- [1] Li W., Huang E., Gao S.: *Type 1 diabetes mellitus and cognitive impairments: a systematic review*, J Alzheimers Dis 2017; 57(1): 29–36.
- [2] Espoña-Noguera A., Etxebarria-Elezgarai J., Saenz Del Burgo L., Cañibano-Hernández A., Gurruchaga H., Blanco F.J., Orive G., Hernández R.M., Benito-Lopez F., Ciriza J., Basabe-Desmonts L., Pedraz J.L.: *Type 1 diabetes mellitus reversal via implantation of magnetically purified microencapsulated pseudoislets*, Int J Pharm 2019; 560: 65–77.
- [3] Aykal G., Yegin A., Tekeli Ö., Yilmaz N.: *A model for managing and monitoring the quality of glucometers used in a high-volume clinical setting*, Biochem Med (Zagreb) 2016; 26(2): 202–209.
- [4] Londaal M., Landin-Olsson M., Attvall S., Mdingi C., Tweden K.S.: *The Eversense CGM system accuracy and safety assessment on the abdomen compared to the upper arm in a home use setting*, Lund University Sweden, University Hospital Gothenburg Sweden, Senseonics Inc Germantown USA.
- [5] El-Khatib F.H., Balliro C., Hillard M.A., Magyar K.L., Ekhlaspour L., Sinha M., Mondesir D., Esmaeili A., Hartigan C., Thompson M.J., Malkani S., Lock J.P., Harlan D.M., Clinton P., Frank E., Wilson D.M., DeSalvo D., Norlander L., Ly T., Buckingham B.A., Diner J., Dezube M., Young L.A., Goley A., Kirkman M.S., Buse J.B., Zheng H., Selagamsetty R.R., Damiano E.R., Russell S.J.: *Home use of a bi-hormonal bionic pancreas versus insulin pump therapy in adults with type 1 diabetes: a multi-centre randomised crossover trial*, Lancet. 2017; 389(10067): 369–380.
- [6] Yu J., Zhang Y., Ye Y., DiSanto R., Sun W., Ranson D., Ligler F.S., Buse J.B., Gu Z.: *Microneedle-array patches loaded with hypoxia-sensitive vesicles provide fast glucose-responsive insulin delivery*, PNAS; 2015, 112(27) 8260–8265.
- [7] Banerjee A., Ibsen K., Brown T., Chen R., Agatemor C., Mitragotri S.: *Ionic liquids for oral insulin delivery*, PNAS; 2018, 115(28): 7296–7301.
- [8] <https://www.healthline.com/health/diabetes/top-iphone-android-apps#my-net-diary>.
- [9] Pinchuk A.V., Anisimov I.A., Dmitriev I.V., Storozhev R.V., Balkarov A.G., Muslimov R.S., Khodilina I.V.: *Pancreas transplantation with isolated blood supply through the splenic artery*, Angiol Sosud Khir. 2019; 25(1): 125–129.
- [10] Veroux M., Bottino R., Santini R., Bertera S., Corona D., Zerbo D., Li Volti G., Ekser B., Puzzo L., Raffaele M., Lo Bianco S., Giaquinta A., Veroux P., Vanella L.: *Mesenteric lymph nodes as alternative site for pancreatic islet transplantation in a diabetic rat model*, BMC Surg 2019; 18(Suppl 1):126.
- [11] Bhansali S., Dutta P., Kumar V., Yadav M.K., Jain A., Mudaliar S., Bhansali S., Sharma R.R., Jha V., Marwaha N., Khandelwal N., Srinivasan A., Sachdeva N., Hawkins M., Bhansali A.: *Efficacy of Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell and Mononuclear Cell Transplantation in Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized, Placebo-Controlled Comparative Study*, Stem Cells Dev 2017;26(7): 471–481.
- [12] Bluestone J.A., Buckner J.H., Fitch M., Gitelman S.E., Gupta S., Hellerstein M.K., Herold K.C., Lares A., Lee M.R., Li K., Liu W., Long S.A., Masiello L.M., Nguyen V., Putnam A.L., Rieck M., Sayre P.H., Tang Q.: *Type 1 diabetes immunotherapy using polyclonal regulatory T cells*, Sci Transl Med 2015; 7(315): 315ra189.
- [13] https://fundacjabirn.pl/projekty/projekt-biodrukowanie-3d-bionicznej-trzustki/?gclid=CjwKCAj-wq-TmBRBdEiwAaO1en7QDACRSFNhne3-UtB_QAwf-tReBOXAOMzj3jKfId2eZA7Zlf3_Rxo-CY50QAvD_BwE.



- Magdalena Sorys¹
- Barbara Lipina¹
- Magdalena Warchoł¹
- Maciej Urlik²

¹ Śląskie Centrum Chorób Serca, Bank Krwi i Pracownia Serologii Transfuzjologicznej

² Śląskie Centrum Chorób Serca, Oddział Transplantacji Płuc z Pododdziałem Mukowiscydozy, Pododdziałem Chirurgii Klatki Piersiowej i Pododdziałem Chorób Płuc

MUKOWISCYDOZA I TRANSPLANTACJA PŁUC W ASPEKcie ZUŻYCIA KRWI I JEJ SKŁADNIKÓW

Mukowiscydoza (zwłóknienie torbielowate, CF) jest wrodzoną, uwarunkowaną genetycznie chorobą wielonarządową. Jest to choroba postępująca i nieuleczalna, o ciężkim przebiegu, która stopniowo niszczy organy wewnętrzne, przede wszystkim płuca i układ trawienny. Przeszczepienie płuc stanowi ważną opcję terapeutyczną chorych na mukowiscydozę, kiedy wyczerpano już inne możliwości leczenia zachowawczego. Analizie poddano grupę pacjentów, u których wykonano transplantację płuc w latach 2018–2019 w Śląskim Centrum Chorób Serca (SCCS) w Zabrze. Podzielono ich na dwie grupy – zakwalifikowanych do przeszczepienia płuc, u których wskazaniem była mukowiscydoza oraz tych, u których wskazanie nie było związane z mukowiscydozą. Porównano zużycie krwi i jej składników podczas transplantacji płuc, jak i podczas pobytu w szpitalu po zabiegu. Pod rozważę poddana została także korelacja pomiędzy ilością przetoczanej krwi i jej składników a powodzeniem transplantacji płuc.

Dziedziczenie

Mukowiscydoza (zwłóknienie torbielowate, CF) jest jedną z najczęściej występujących chorób genetycznych w populacji kaukaskiej (w Polsce 1:5000 urodzeń). Choroba ta jest zaburzeniem autosomalnym, recesywnym (nie jest związana z chromosomami X,Y), wywołanym mutacją genu (obu alleli) złożonego z 250 000 par zasad, zlokalizowanego w chromosomie 7 i zwanego mukowiscydozowym przez błonowym regulatorem przewodnictwa [ang. *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*, CFTR]. Białko CFTR jest kanałem chlorkowym regulowanym przez cAMP, znajdującym się zazwyczaj w szczycowej części komórek nabłonka wydzielających śluz, obecnych m.in. w jelitach i w płucach. Białko to zaangażowane jest w transport jonów chloru i sodu przez błony komórek nabłonkowych – nieprawidłowy transport jonów prowadzi do zaburzenia równowagi elektrolitowej, zmniejszając uwodnienie dróg oddechowych i wytwarzania gęstej, lepkiej wydzieliny.

Najczęstszą mutacją w genie CFTR jest delecja trzech par zasad, powodująca utratę fenyloalaniny w pozycji 508 łańcucha polipeptydowego. Mutacja ta określana jako deltaF508, stanowi prawie 70% wszystkich mutacji. Identyfikacja mutacji pozwala na określenie rokowań co do przebiegu choroby.

Przesiewowe badanie noworodków

Obecnie wszystkie dzieci urodzone po lipcu 2009 objęte są programem badań przesiewowych w kierunku mukowiscydozy. Badanie opiera się na określeniu stężenia immunoreaktywnej trypsyny (tzw. IRT) w próbce krwi. W przypadku niejednoznacznego wyniku badania, ta sama próbka poddawana jest badaniu genetycznemu, którego celem jest stwierdzenie zmian w genie CFTR – nie u każdego chorego pacjenta udaje się określić mutacje w obu allelach. Niestety badania przesiewowe nie gwarantują w 100% wykrycia choroby. Bywa, że początkowo wyniki badań przesiewowych są prawidłowe, a pierwsze objawy mukowiscydozy pojawiają się dopiero po kilku latach życia.

Przeszczepienia płuc

W 1997 roku w SCCS w Zabrze dokonano pierwszego udanego przeszczepienia płuca w Polsce i od tego czasu liczba przeszczepionych płuc w tej placówce systematycznie wzrasta.

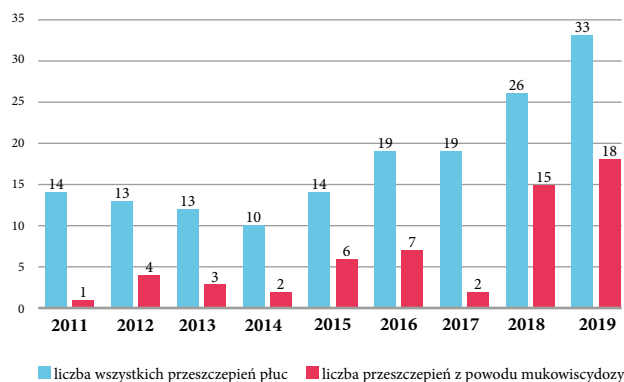
Obecnie transplantacje płuc przeprowadza się w czterech ośrodkach w kraju. Są to: Klinika Kardiologii i Chirurgii Naczyniowej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego GUM w Gdańsku, Oddział i Klinika Torakochirurgii UM w Poznaniu, Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej i Transplantologii PUM w Szczecinie, Katedra i Oddział

Kliniczny Kardiochirurgii, Transplantologii, Chirurgii Naczyniowej i Endowaskularnej ŚUM w Zabrzu.

Przełomową datą stał się 8 marca 2011 roku. Miało wtedy miejsce pierwsze w Polsce, wykonane w SCCS, przeszczepienie płuc u pacjenta chorego na mukowiscydozę. Pacjent miał wtedy 30 lat i żyje z przeszczepionymi płucami do dziś. Pokonano kolejną barierę w polskiej medycynie.

Kolejną kluczową datą jest 11 września 2019 roku. Dokonano wtedy pierwszego w Polsce jednoczesnego przeszczepienia płuc i wątroby u 20-letniego pacjenta chorego na mukowiscydozę. Operacji podjęli się wspólnie chirurdzy ze Szpitala Klinicznego im. Mielęckiego w Katowicach oraz kardiochirurdzy z SCCS w Zabrzu. Kompleksowy zabieg zakończył się sukcesem – pacjent wrócił do normalnego życia.

Liczba wykonanych transplantacji płuc w Śląskim Centrum Chorób Serca w Zabrzu w latach 2011–2019



Wykres 1. Liczba wykonanych transplantacji płuc w SCCS w Zabrzu w latach 2011–2019

Zużycie krwi i jej składników

Podczas operacji przeszczepienia płuc oraz w okresie po transplantacji, bardzo często konieczne są przetoczenia krwi i jej składników:

- UKKCZ – ubogoleukocytarny koncentrat krwinek czerwonych
- UKKP – ubogoleukocytarny koncentrat krwinek płytkowych
- FFP – osocze świeżo mrożone
- CPAG – krioprecypitat.

U tej grupy pacjentów, po transplantacji, podawane są ubogoleukocytarne składniki krwi w celu zmniejszenia ryzyka alloimmunizacji antygenami HLA oraz poprzetoczeniowego zakażenia CMV.

Rodzaj preparatu	2018 (15 przeszczepień)		2019 (18 przeszczepień)	
	suma	średnio/ pacjenta	suma	średnio/ pacjenta
UKKCZ	182 j	12,13 j	158 j	8,78 j
FFP	154 j	10,27 j	81 j	4,50 j
CPAG	76 j	5,07 j	53 j	2,94 j
UKKP	34 op	2,27 op	26 op	1,44 op

Tab. 1. Zużycie krwi i jej składników podczas całej hospitalizacji (operacja i pobyt w szpitalu) u pacjentów z mukowiscydozą

Rodzaj preparatu	2018 (15 przeszczepień)		2019 (18 przeszczepień)	
	suma	średnio/ pacjenta	suma	średnio/ pacjenta
UKKCZ	108 j	7,20 j	54 j	2,85 j
FFP	128 j	8,53 j	71 j	3,75 j
CPAG	72 j	4,80 j	49 j	2,70 j
UKKP	21 op	1,40 op	12 op	0,75 op

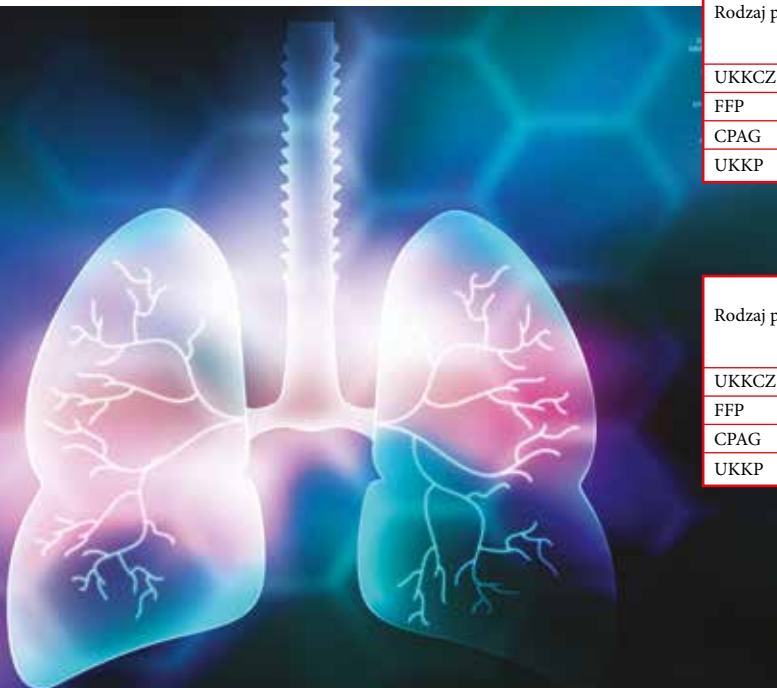
Tab. 2. Zużycie krwi i jej składników podczas operacji przeszczepienia płuc u pacjentów z mukowiscydozą

Rodzaj preparatu	2018 (11 przeszczepień)		2019 (15 przeszczepień)	
	suma	średnio/ pacjenta	suma	średnio/ pacjenta
UKKCZ	84 j	7,64 j	180 j	12,00 j
FFP	75 j	6,82 j	109 j	7,27 j
CPAG	59 j	5,36 j	60 j	4,00 j
UKKP	24 op	2,18 op	75 op	3,80 op

Tab. 3. Zużycie krwi i jej składników podczas całej hospitalizacji (operacja i pobyt w szpitalu) u pacjentów bez mukowiscydozy

Rodzaj preparatu	2018 (11 przeszczepień)		2019 (15 przeszczepień)	
	suma	średnio/ pacjenta	suma	średnio/ pacjenta
UKKCZ	31 j	2,82 j	50 j	3,33 j
FFP	63 j	5,73 j	61 j	4,07 j
CPAG	54 j	4,91 j	60 j	4,00 j
UKKP	11 op	1,00 op	26 op	1,73 op

Tab. 4. Zużycie krwi i jej składników podczas operacji przeszczepienia płuc u pacjentów bez mukowiscydozy





Transplantacja płuc obarczona jest dużym ryzykiem niepowodzenia. Zespoły transplantologów kwalifikujących do przeszczepienia płuc koncentrują się na wypracowaniu jak najwłaściwszych wskazań i przeciwwskazań do zabiegu, wyboru optymalnego momentu transplantacji oraz zniwelowaniu powikłań pooperacyjnych. W SCCS w roku 2019, w stosunku do roku 2018, wzrosła ilość zgonów.

	Liczba przeszczepień płuc u pacjentów z mukowiscydozą	Liczba pacjentów wypisanych do domu po transplantacji	Liczba zgonów wewnątrzszpitalnych
rok 2018	15	14	1
rok 2019	18	18	0

Tab. 5. Liczba pacjentów żyjących oraz zgonów po przeszczepieniu płuc u pacjentów z mukowiscydozą

	Liczba przeszczepień płuc u pacjentów bez mukowiscydozy	Liczba pacjentów wypisanych do domu po transplantacji	Liczba zgonów wewnątrzszpitalnych
rok 2018	11	11	0
rok 2019	15	14	1

Tab. 6. Liczba pacjentów żyjących oraz zgonów po przeszczepieniu płuc u pacjentów bez mukowiscydozy

Wnioski

Ważnym elementem mającym wpływ na ilość zużytych składników krwi jest ogólny stan pacjenta przed przystąpieniem do zabiegu, jak i ewentualne komplikacje związane z przeszczepem. Stwierdzono, iż średnio więcej krwi i jej składników przetoczono pacjentom, u których kwalifikacją do zabiegu nie była mukowiscydoza. Zdarza się, że pacjenci w trakcie operacji wymagają zastosowania ECMO. Jest to metoda pozaustrojowego wspomaganie oddychania. W praktyce wiąże się to zwykle z koniecznością liczniejszych przetoczeń krwi i jej składników u tych chorych. Wart podkreślenia jest fakt, iż porównując rok 2018 i 2019 widać znaczny spadek zużycia składników krwi w trakcie zabiegu transplantacji płuc, a także późniejszej hospitalizacji u pacjentów z mukowiscydozą.

Każdy rok doświadczeń leczenia tej wybranej grupy pacjentów jest nowym wyzwaniem, często wyznaczającym nowe, lepsze standardy leczenia. ●

Piśmiennictwo

1. Statystyka 2018–2019 Śląskie Centrum Chorób Serca, Oddział Transplantacji Płuc z Pododdziałem Mukowiscydozy, Pododdziałem Chirurgii Klatki Piersiowej i Pododdziałem Chorób Płuc
2. Zasady rozpoznawania i leczenia mukowiscydozy, Zalecenie Polskiego Towarzystwa Mukowiscydozy, 2009 Poznań-Warszawa-Rzeszów (Standardy Medyczne/Pediatrica 2009)
3. Mukowiscydoza – pierwsze kroki, Polskie Towarzystwo Walki z Mukowiscydozą www.ptwm.org.pl
4. Opieka nad chorymi na mukowiscydozę w Polsce, Stan obecny i rekomendacje poprawy, Raport Warszawa-Kraków 2019
5. Ośrodki przeszczepiające płuca, Centrum Organizacyjno-Koordynujące ds. Transplantacji „Poltransplant”

● Karolina Chrebelska¹● Ewa Krysiak¹● Ewelina Nastarowicz¹¹ Miejskie Centrum Medyczne im. K. Jonschera w Łodzi. Laboratorium Medyczne Synevo

ZNACZENIE DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ W REUMATOIDALNYM ZAPALENIU STAWÓW

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS, gościec przewlekłe postępujący, artretyzm) to najbardziej znana, powszechna i przewlekła choroba tkanki łącznej o nieznanej etiologii. Jest to choroba autoimmunologiczna, która atakuje zarówno stawy jak i tkankę łączną. RZS dotyczy około 1% populacji, a z badań wynika, że trzy razy częściej chorują kobiety niż mężczyźni. Szczyt zachorowalności występuje pomiędzy 4 a 5 dekadą życia [1, 7].

RZS może dotyczyć prawie każdego stawu w organizmie, ale początkowe objawy zwykle dotyczą nadgarstków, kostek, stóp i/lub kolan. Oprócz powodowania bolesnych obrzęków i sztywności stawów, reumatoidalne zapalenie stawów może powodować gorączkę i zmęczenie oraz prowadzić do długotrwałych deformacji stawów [2]. Choroba ta charakteryzuje się symetrycznym nieswoistym zapaleniem stawów, degradacją chrząstki stawowej i nasad kości, co z kolei prowadzi do zmniejszenia ich ruchomości, zaniku mięśni okołostawowych, osteoporozy oraz inwalidztwa. Ponadto występują zmiany pozastawowe i powikłania układowe, w tym zapalenia naczyń, amyloidozę reaktywną i włóknienie płuc. Przebieg tego schorzenia, pomimo stosowanej farmakoterapii, ma charakter przewlekły i może w krótkim czasie doprowadzić do niepełnosprawności i przedwczesnej śmierci [4].

Do rozwoju reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS) przyczyniają się zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe. Należą do nich:

- obciążenie dziedziczne
- defekt układu odpornościowego
- zakażenie
- zaburzenia w składzie flory jelitowej
- zaburzenia hormonalne
- urazy, obciążenia, deformacje
- palenie papierosów
- stres
- niewłaściwa dieta [1].

Nie ma wątpliwości, że dieta odgrywa pewną rolę, ale żaden konkretny składnik odżywczy nie okazał się być ani ochronny, ani szkodliwy. Palenie tytoniu jest jedynym środowiskowym czynnikiem ryzyka, który został ściśle zweryfikowany i udokumentowany. Można je uznać za przyczynę RZS. Pacjenci, którzy chorują na RZS są również podatni na inne współistniejące choroby. Wynika to z tego, iż w organizmie toczy się długotrwały stan zapalny. Leczenie RZS, stosowanie dużej ilości niesteroidowych leków przeciwzapalnych, niesie ze sobą wiele powikłań. U chorych na RZS często dodatkowo diagnozuje się chorobę wrzodową żołądka i dwunastnicy, osteoporozę, choroby układu krążenia, miażdżycę [1].

Lekarze uważają, że wczesna diagnoza i leczenie mają kluczowe znaczenie, aby ograniczyć uszkodzenia tkanek i zachować funkcje stawów, ale proces diagnostyczny może stanowić prawdziwe wyzwanie. Celem leczenia jest głównie minimalizacja bólu i obrzęku stawów, zapobieganie uszkodzeniom radiologicznym i widocznym zniekształceniom [5].

Choroby autoimmunologiczne, takie jak RZS, często charakteryzują się obecnością autoprzeciwciał. Można do nich zaliczyć czynnik reumatoidalny (RF) i/lub przeciwciała przeciwko cyklicznym cytrulinowanym peptydom (a-CCP) [7]. W badaniach różnych autorów udowodniono, że w surowicy chorych na reumatoidalne zapalenie stawów na długo przed wystąpieniem pierwszych objawów klinicznych choroby dochodzi do wzrostu stężenia interleukin [IL-12(p70), IL-1B, IL-5, IL-7], czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF alfa) i czynnika hamującego białaczkę (LIF) oraz zwiększenia



liczby epitopów cytrulinowanych białek (ACPA) i miana przeciwciał a-CCP. Co więcej, podobnie jak w innych układowych chorobach tkanki łącznej, mogą występować przeciwciała przeciwjądrowe (ANA) [7, 8].

Diagnostyka RZS

Rozpoznanie RZS opiera się o kryteria Amerykańskiego Kolegium Reumatologicznego (ACR, American Collegium of Rheumatology) oraz Europejskiej Ligi do Walki z chorobami Reumatycznymi (EULAR, European League Against Rheumatism) z 2010 roku. Kryteria te pozwalają na wykrycie wczesnej jak i przewlekłej postaci erozyjnej. Kryteria biorą pod uwagę 4 kategorie:

1. umiejscowienie stanu zapalnego
2. wskaźniki stanu zapalnego (CRP, OB)
3. testy serologiczne (RF IgM, anty-CCP)
4. czas trwania choroby

Nie ma jednego testu laboratoryjnego, który pozwoliłby na ostateczne rozpoznanie RZS. Ciągłe poszukuje się czułych i swoistych markerów stanu zapalnego, które umożliwiłyby wykrycie choroby już w początkowym jej stadium oraz wdrożenie skutecznej terapii hamującej proces zapalny [2, 7]. Do najbardziej powszechnych i użytecznych testów laboratoryjnych należą:

- RF – czynnik reumatoidalny w klasie IgM
- A-CCP – przeciwciała przeciwko cytrulinowanym peptydom.

Poza tymi testami do badań szczególnie ważnych przy wstępnej diagnostyce należą: **CRP** (białko stanu zapalnego), **OB**, **morfologia krwi** [2, 5, 9].

Czynnik reumatoidalny

Czynnik reumatoidalny (RF) w klasie IgM jest jednym z ważniejszych markerów serologicznych artretyzmu. Czynnik ten został odkryty przez Waalera i Rose w 1930 roku. RF IgM występuje u około 75% chorych na RZS (wysokie miano koreluje z szybkością destrukcją stawów i wystąpieniem zmian pozastawowych). Natomiast jego brak wskazuje na postać seronegatywną choroby. Jeśli doszło już do rozpoznania choroby, miano RF IgM koreluje z aktywnością choroby oraz jest czynnikiem rokowniczym. Niestety RF IgM charakteryzuje się niską swoistością dla RZS [87%]. Wysokie

miano tego autoprzeciwciała obserwuje się w innych układowych chorobach tkanki łącznej, tj. w zespole Sjögrena, twardzinie układowej, mieszanej chorobie tkanki łącznej, toczeniu rumieniowatym układowym oraz w zapaleniu wielomięśniowym/śródmięśniowym czy sarkoidozie [7, 10, 11, 12].

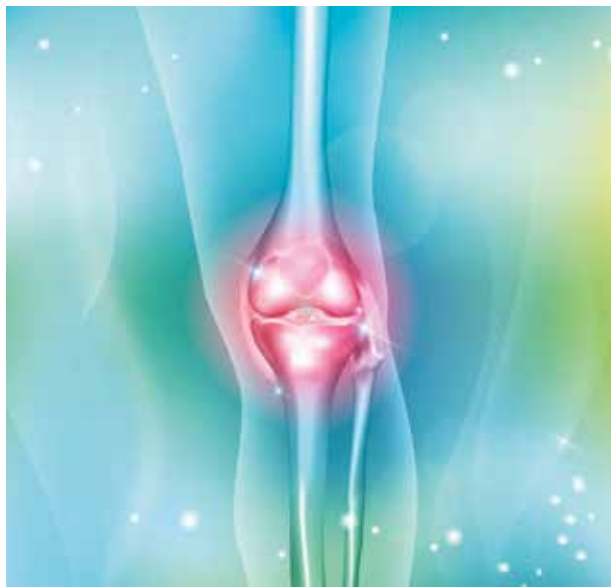
Przeciwciała a-CCP

Przeciwciała anty-CCP obecne u chorych na RZS można wykryć już we wczesnych stadiach procesu zapalnego obejmującego błonę maziową stawów [18, 20]. Ciekawostką jest to, iż przeciwciała a-CCP można wykrywać we krwi nawet 10–14 lat przed pojawieniem się pierwszych objawów klinicznych RZS [7, 8]. Przeciwciała a-CCP obserwuje się u około 70% chorych z serologicznie dodatnią postacią RZS i u 33% z seronegatywną postacią RZS [13]. W rozpoznawaniu RZS przeciwciała a-CCP mają czułość diagnostyczną zbliżoną do RF IgM, ale większą swoistość. Czułość diagnostyczną stosowanych powszechnie testów do oznaczania przeciwciał a-CCP wynosi około 61% we wczesnej fazie RZS oraz 75% w zaawansowanym okresie choroby. Jeśli chodzi o swoistość diagnostyczną oceniana jest na 99% względem osób zdrowych i około 94% względem chorych na inne choroby reumatyczne [7].

Około 50 do 80 procent osób z RZS ma czynnik reumatoidalny, przeciwciała anty-CCP lub oba te czynniki. Pacjenci z RZS mogą mieć dodatni wynik testu na obecność przeciwciał przeciwjądrowych, a test ten ma znaczenie prognostyczne u młodych osób z tą chorobą. ANA może być związane z reumatoidalnym zapaleniem stawów, ale jest bardziej powszechne w innych zaburzeniach autoimmunologicznych, szczególnie w toczeniu rumieniowatym układowym (SLE) [5].

Inne przeciwciała ACPA

Do grupy autoprzeciwciał ACPA należą również przeciwciała przeciwkeratynowe (AKA), przeciwciała antyfilagrynowe (AFA) oraz przeciwciała przeciw czynnikowi okołojądrowemu (APF). Stanowią one grupę immunoglobulin, które są skierowane przeciwko różnym białkom i peptydom zawierającym cytrulinę. ACPA w połączeniu z autoantygenami tworzą kompleksy immunologiczne, które prowadzą do aktywacji układu dopełniacza i pobudzają komórki do syntezy cytokin prozapalnych. Konsekwencją tych mechanizmów





jest przewlekłą odpowiedź zapalna, miejscowa jak i uogólniona [7]. Przeciwciała przeciwkeratynowe (AKA) występują u 36–59% chorych na RZS. Oznacza się je metodą immunofluorescencji pośredniej (IF II), z wykorzystaniem skrawków przełyku szczura. Czułość i swoistość testów AKA kształtują się odpowiednio na poziomie 40–60% i 88–99%. Przeciwciała antyfilagrynowe (AFA) występują u 41% chorych na RZS. Oznacza się je z zastosowaniem metod immunoblotingu lub ELISA. Do tych testów używa się rekombinowanej filagryny, co znacznie wpływa na zwiększenie czułości tych testów nawet do 52%. Przeciwciała AFA charakteryzują się bardzo wysoką specyficznością dla RZS (>90%). Przeciwciała przeciw czynnikowi okołojądrowemu (APF) głównie w klasie IgG, występują u 49–91% chorych na RZS. Wykazano, że swoistość tych przeciwciał wynosi 73–99%. Niestety, nie znalazły zastosowania w rutynowej diagnostyce z powodu trudności z uzyskaniem właściwego substratu, a także brakiem standaryzacji wyników [7, 13].

Opisując grupę przeciwciał ACPA należy wspomnieć także o przeciwciałach anty-Sa (przeciwciała przeciw zmutowanej, cytrulinowanej wimentynie) oraz anty-MCV (przeciwciała przeciw zmodyfikowanej izoformie cytrulinowanej wimentyny). Przeciwciała anty-Sa reagują z antygenem Sa, który jest cytrulinowaną formą przejściową filamentów białka wimentyny. Przeciwciała oznaczane są metodą ELISA. Poziom przeciwciał jest powiązany ze stanem klinicznym pacjenta – wzrasta wprost proporcjonalnie do nasilenia zmian. Charakteryzują się czułością w zakresie 31–84% oraz swoistością 83–93 % dla RZS [7, 13, 14].

Nowe biomarkery RZS

Dość niedawno poznanymi przeciwciałami są przeciwciała przeciw karbamylowanym białkom (anty-CarP). Przeciwciała te stwierdza się u około 45% chorych na RZS. Co ciekawe, u 30% pacjentów, u których nie wykryto przeciwciał z grupy ACPA, wykrywa się przeciwciała anty-CarP. W przypadku tych przeciwciał ważna jest dodatnia korelacja pomiędzy obecnością przeciwciał anty-CarP a wskaźnikiem erozji stawów. Dlatego też przeciwciała te mogą stać się istotnym predyktorem uszkodzenia stawów oraz markerem postępu choroby [7, 15]. Czułość i swoistość tych przeciwciał to odpowiednio 2–29% oraz 95–100%.

Surwiwinia jest białkiem należącym do rodziny inhibitorów apoptozy. W RZS jest syntetyzowana przez fibroblasty błony maziowej, przez co białko to przyczynia się do rozrostu błony maziowej, reguluje proces zapalny i powoduje zmiany erozyjne w stawach. W badaniach Bokarewa et al. zaobserwowano istotnie wyższe stężenia surwiwiny w płynie stawowym i osoczu chorych na RZS w porównaniu do grupy kontrolnej [16, 21]. Wysokie stężenia tego białka prowadzą do przewlekłych nadżerkowych zapaleń stawów oraz wiążą się znacznie gorszą szansą na leczenie [7].

Molekuły mikro-RNA (miRNAs) to grupa nowych, potencjalnych markerów RZS. W patogenezie RZS ważną rolę odgrywają cytokiny prozapalne. Jedną z kluczowych cytokin jest TNF alfa, który jest produkowany przez aktywowane makrofagi, reaktywne limfocyty oraz komórki NK, neutrocyty oraz komórki śródbłonna. Trenkmann et al. stwierdził, iż miR-18a wpływa na ekspresję TNF alfa, dodatkowo aktywują czynnik jądrowy NF- κ B, co ostatecznie skutkuje niszczeniem chrząstki stawowej i przewlekłym zapaleniem stawów [17, 20]. Ponadto miR-146a oraz miR-16 także są skojarzone ze wzmożoną aktywnością RZS [7]. Z kolei w badaniach Yang et al. udowodniono zwiększoną ekspresję miR-221 w surowicy i w biopsjach błony maziowej chorych na RZS w porównaniu do grupy kontrolnej. Wykazano również, że zmniejszenie ekspresji miR-221 powoduje apoptozę komórek oraz obniża ekspresję surwiwiny. Ten fakt podpowiada, iż miR-221 może stanowić cel terapeutyczny w RZS [17, 18].

Białko 14-3-3n także może być nowym biomarkerem RZS, który z powodzeniem będzie mógł uzupełniać kryteria rozpoznania choroby z 2010 roku. Maksymowych et al. wykazali, że stężenie tego białka w surowicy chorych na RZS jest wyższe niż w surowicy chorych na chorobę zwyrodnieniową stawów [19].

W diagnostyce RZS prowadzone są również badania nad receptoraми typu scavenger (receptory zmiatacze). Receptory te mają zdolność do wiązania i usuwania egzo- lub endogennych cząsteczek, tym samym odgrywają rolę w utrzymaniu homeostazy w organizmie. Takim receptorem jest m. in. CD163, a zwiększoną ekspresję jego rozpuszczalnej formy sCD163 zaobserwowano u chorych z wczesnym RZS. Ponadto stężenie sCD163 było wyższe u osób z RZS niż u osób ze zwyrodnieniem stawów oraz korelowało ze zmianami nadżerkowymi w stawach [7].

Pozostałe badania

W postępowaniu diagnostycznym wykonuje się także badania pomocnicze takie jak CRP, OB, stężenie fibrynogenu, proteinoqram, aktywność AST i ALT, stężenie kwasu moczowego, kreatyniny i elektrolitów w surowicy. Poziomy białka CRP i OB są często zwiększone w aktywnej RZS i wynoszą odpowiednio >7mg/l oraz >30 mm po 1h. Ponadto obserwuje się zwiększone stężenie fibrynogenu, a w morfologii krwi niedokrwistość normocytową i hipochromiczną, niewielką leukocytozę z prawidłowym wzorem odsetkowym, nadpłytkowość (w bardzo aktywnej postaci choroby) albo małopłytkowość (jako powikłanie polekowe). W proteinogramie stwierdza się zwiększone stężenie globulin alfa-1 i alfa2. Powyższe parametry mogą być również wykorzystywane do śledzenia aktywności choroby i reakcji na leki [9].

Do badań pozalaboratoryjnych pomocnych w diagnostyce RZS należą:

Badanie USG – umożliwia wykrycie zapalenia delikatnej tkanki maziowej, która obejmuje niektóre stawy i ścięgna. Ten stan zapalny, zwany zapaleniem błony maziowej, jest charakterystycznym objawem reumatoidalnego zapalenia stawów. Badanie USG uwidacznia obecność płynu w dużych i małych stawach, ponadto pozwala wykryć nadżerki powierzchni stawowych.

Badania RTG – nie są wykorzystywane do wczesnej diagnostyki, bo we wczesnym stadium reumatoidalnego zapalenia stawów osoba może mieć jedynie obrzęk tkanek miękkich, który nie jest wykrywalny na zdjęciu rentgenowskim, dlatego też zdjęcia rentgenowskie nie są wykorzystywane do wczesnej diagnostyki.

Badanie rezonansu magnetycznego – rezonans magnetyczny jest bardzo dokładnym badaniem, umożliwia wczesne wykrycie zapalenia błony maziowej, nadżerek stawowych oraz obrzęku szpiku kostnego. Wadą rezonansu jest to, że jest on bardziej czasochłonny i kosztowny niż USG i RTG. Zazwyczaj rezonans magnetyczny nie jest konieczny i jest zalecany tylko wtedy, gdy zdjęcia rentgenowskie i USG nie okazały się pomocne.

Badanie TK – pozwala znacznie wcześniej wykryć zmiany destrukcyjne w stawach niż RTG [1, 5, 9].

LECZENIE

Leczenie farmakologiczne

Podstawowe znaczenie mają leki modyfikujące przebieg choroby (LMPCh). Natomiast jeśli chodzi o szybkie opanowanie choroby stosuje się niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) lub glikokortykosteroidy (GKS).

LMPCh – hamują zmiany destrukcyjne w stawach lub opóźniają ich wystąpienie. Lekami te dzielimy na klasyczne (niebiologiczne) z czego metotreksat w tej grupie uznawany jest jako lek pierwszego wyboru oraz biologiczne (m.in. adalimumab, rytuksymab).

NLPZ – służą jedynie do doraźnego opanowania objawów zapalenia.

GKS – leki te należy stosować w najmniejszej skutecznej dawce, w celu doraźnego opanowania objawów zapalenia.

Rehabilitacja

Rehabilitację należy stosować na każdym etapie choroby. W jej skład wchodzi: kinezyterapia – zwiększenie siły mięśni, poprawa sprawności fizycznej, zapobieganie przykurczom i zniekształceniom; fizykoterapia – elektro-, termo-, lasero-, krioterapia, masaże i balneoterapia wywierają efekt przeciwzapalny, przeciwbólowy i rozluźniający mięśnie. W przypadku silnych dolegliwości bólowych, zniszczenia stawu ograniczającego zakres ruchów należy rozważyć wykonanie zabiegu operacyjnego [9]. ●

Piśmiennictwo:

- [1] *Zdrowe Stawy. Leczenie diety*, Hanna Stolińska-Fiedorowicz
- [2] *Risk factors for rheumatoid arthritis*, Aho K 1, Heliövaara M.
- [3] Onozaki K., *Etiological and biological aspects of cigarette smoking in rheumatoid arthritis*, Infl amm. Allergy Drug. Targets 2009; 8(5): 364–368.
- [4] *Aktualne poglądy na etiopatogenezę reumatoidalnego zapalenia stawów*. ANNALES ACADEMIAE MEDICAE SILESIIENSIS 2011 | 65 | 4 | 51–57. Agnieszka Jura-Półtorak, Krystyna Olczyk.
- [5] *Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis*. AMY M. WASSERMAN, M.D. Boston University School of Medicine, Boston, Massachusetts.
- [6] www.labtestsonline.pl.
- [7] Beata Polińska, Joanna Matowicka-Karna, Halina Kemona, *Markery wczesnego stadium reumatoidalnego zapalenia stawów*. Journal of Laboratory Diagnostics Diagn Lab 2015; 51(4): 305–314.
- [8] Sokolove J., Bromberg R., Deane K.D. et al., *Autoantibody epitope spreading in the pre-clinical phase predicts progression to rheumatoid arthritis*, Plos One 2012; 7: e35296.
- [9] Andrzej Szczeklik, Piotr Gajewski, *Kompendium Medycyny Praktycznej. Choroby wewnętrzne*, 2010.
- [10] Burska A.N., Hunt L., Boissinot M. et al., *Autoantibodies to post-translational modifications in rheumatoid arthritis*, Mediators Inflamm 2014; 492873.
- [11] Taylor P., Gartemann J., Hsieh J. et al., *A systematic review of serum biomarkers anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factor as tests for rheumatoid arthritis*, Autoimmune Dis 2011; 815038.
- [12] Senolt L., Grassi W., Szodoray P., *Laboratory biomarkers or imaging in the diagnostics of rheumatoid arthritis?* BMC Med 2014; 12: 49.
- [13] Alicja Grim, Katarzyna Komosińska-Vashev, Paweł Olczyk, *Rodzaje autoprzeciwciał w chorobach reumatycznych i metody ich oznaczeń*. Journal of Laboratory Diagnostics Diagn Lab 2015; 51(3): 235–250.
- [14] Farid S., Azizi G., Mirshafiey A., *Anti-citrullinated protein antibodies and their clinical utility in rheumatoid arthritis*, Int J Rheumat Dis 2013; 16: 379–386.
- [15] Shi J., van de Stadt L.A., Levarht E.W. et al., *Anti-carbamylated protein (anti-CarP) antibodies precede the onset of rheumatoid arthritis*, Ann Rheum Dis 2014; 73: 780–783.
- [16] Rivadeneira D.B., Caino M.C., Seo J.H., *Survivin promotes oxidative phosphorylation, subcellular mitochondrial repositioning, and tumor cell invasion*. Sci Signal 2015; 8(389):ra80.
- [17] De la Rica L., Urquiza J.M., Gómez-Cabrero D. et al., *Identification of novel markers in rheumatoid arthritis through integrated analysis of DNA methylation and microRNA expression*, J Autoimmun. 2013; 41: 6–16.
- [18] Li X., Tian F., Wang F., *Rheumatoid arthritis-associated microRNA-155 targets SOCS1 and upregulates TNF-α and IL-1β in PBMCs*, Int J Mol Sci 2013; 14: 23910–23921.
- [19] Maksymowich W.P., Boire G., van Schaardenburg D. et al., *14-3-3η Autoantibodies: Diagnostic Use in Early Rheumatoid Arthritis*, J Rheumatol 2015; 42: 1587–1594.
- [20] Trenkmann M., Brock M., Gay R.E. et al., *Tumor necrosis factor α-induced microRNA-18a activates rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through a feedback loop in NF-κB signaling*, Arthritis Rheum 2013; 65: 916–927.
- [21] Bokarewa M., Lindblad S., Bokarew D. et al., *Balance between survivin, a key member of the apoptosis inhibitor family, and its specific antibodies determines erosivity in rheumatoid arthritis*, Arthritis Res Ther 2005; 7: 349–358.



● **Beata Dziedzicka**
Rzecznik Dyscyplinarny KIDL

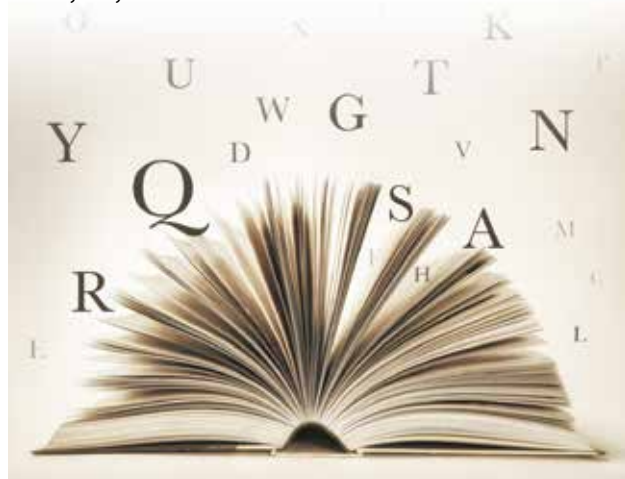
PO POLSKU!

Do Rzecznika Dyscyplinarnego KIDL wpływają pytania o język wyników badań. Sprawa jest jednak dość prosta, wystarczy spojrzeć do Ustawy o języku polskim.

W jakim języku wystawiać wyniki badań? Odpowiedź jest banalna – w języku polskim, każdy inny, dodatkowy język może być stosowany fakultatywnie (na zasadach określonych w rozporządzeniu ministra właściwego do spraw administracji publicznej), niemniej obowiązkiem prawnym wynikającym chociażby z Ustawy o języku polskim jest używanie języka polskiego przez placówki ochrony zdrowia. Dlatego wszelkie wyniki, dokumenty medyczne wystawiane na terytorium Rzeczypospolitej Polski w innym języku niż właśnie polski są niepoprawne, niezgodne z prawem.

Ustawa o języku polskim

Ustawa o języku polskim z 7 października 1999 r., ze zmianami z 11 kwietnia 2003 r. i 2 kwietnia 2004 r. podkreśla, że język polski jest dobrem kultury polskiej, podstawowym elementem narodowej tożsamości, może mieć wkład w budowę wspólnoty europejskiej, dlatego należy go chronić i jest to obowiązek wszystkich organów i instytucji publicznych (jak również powinność obywateli). Artykuły, które możemy odnieść do zawodu diagnosty, są przede wszystkim dwa. O tych artykułach pisał również współpracujący z KIDL dr hab. Piotr Z. Pomianowski w opinii prawniczej dostępnej na oficjalnej stronie KIDL.



Pierwszym artykułem jest art. 4, punkt 4 z rozdziału I wspomnianej już ustawy o języku polskim: „Język polski jest językiem urzędowym instytucji powołanych do realizacji określonych zadań publicznych”. To znaczy, że publiczna służba zdrowia ma obowiązek używać języka polskiego jako podstawowego i pierwszego. Nie ma w tym wypadku żadnych dyskusyjnych przypadków.

Drugi artykuł, który również może być wykorzystywany przy tej sprawie dotyczy nie tylko podmiotów publicznych, ale podmiotów działających na terytorium RP w ogóle. Zgodnie z art. 7 ustawy o języku polskim „Na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej w obrocie z udziałem konsumentów oraz przy wykonywaniu przepisów z zakresu prawa pracy używa się języka polskiego, jeżeli: 1) konsument lub osoba świadcząca pracę ma miejsce zamieszkania na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej w chwili zawarcia umowy oraz 2) umowa ma być wykonana lub wykonywana na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej”. Wniosek jest prosty – na podstawie tych przepisów wszystkie badania powinny być opisywane, przedstawiane i wydawane w języku polskim.

Ustawa o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta

Jeszcze jednym aktem prawnym, który może być pomocny w odpowiedzi na liczne zapytania spływające do Rzecznika Dyscyplinarnego KIDL, jest Ustawa z 6 listopada 2008 r. o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta wskazuje, że „Pacjent, w tym małoletni, który ukończył 16 lat, lub jego przedstawiciel ustawowy mają prawo do uzyskania od osoby wykonującej zawód medyczny przystępnej informacji o stanie zdrowia pacjenta, rozpoznaniu, proponowanych oraz możliwych metodach diagnostycznych i leczniczych, dających się przewidzieć następstwach ich zastosowania albo zaniechania, wynikach leczenia oraz rokowaniu, w zakresie udzielanych przez tę osobę świadczeń zdrowotnych oraz zgodnie z posiadanymi przez nie uprawnieniami”. Dzięki tej ustawie możemy wywnioskować, że „przystępna informacja” w RP zakłada użycia języka polskiego, bo jest to język urzędowy, nauczany od najmłodszych lat wśród Polaków. Żeby informacja była przystępna musi być po prostu łatwa do zrozumienia, żeby była zrozumiała, musi być podana w języku ojczystym, czyli polskim.

Zważywszy na podane przykłady aktów prawnych oczywiste jest, że to właśnie język polski musi być stosowany przy wydawaniu i opisywaniu wyników w laboratoriach na terytorium RP. Przytoczone ustawy mówią o tym wprost, a publiczne placówki zdrowia niewątpliwie mają obowiązek stosować się do polskiego prawa, które po pierwsze ujednolici system, pomaga w wymianie informacjami, współpracy między różnymi podmiotami, po drugie służy dobru pacjenta, a to jest misja każdego zawodu medycznego. ●

Współpraca merytoryczna z zakresu językowego: **Marta Dziedzicka** (filolożka polska, historyczka, doktorantka na Uniwersytecie Warszawskim)

● dr hab. Piotr Pomianowski

radca prawny

prawnik Rzecznika Dyscyplinarnego KIDL



JĘZYK DOKUMENTACJI MEDYCZNEJ

W związku z informacją o stosowaniu przez niektórych diagnostów laboratoryjnych praktyki opisywania i wydawania wyników badań wyłącznie w języku angielskim, należy stwierdzić, że postępowanie takie nie jest prawidłowe. Sprzeciwiają mu się następujące przepisy prawa:

Art. 9 ust. 2 ustawy o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta, który stanowi, że *Pacjent, w tym małoletni, który ukończył 16 lat, lub jego przedstawiciel ustawowy mają prawo do uzyskania od osoby wykonującej zawód medyczny przystępnej informacji o stanie zdrowia pacjenta, rozpoznaniu, proponowanych oraz możliwych metodach diagnostycznych i leczniczych, dających się przewidzieć następstwach ich zastosowania albo zaniechania, wyników leczenia oraz rokowaniu, w zakresie udzielanych przez tę osobę świadczeń zdrowotnych oraz zgodnie z posiadanymi przez nią uprawnieniami. Jeśli pacjentem jest obywatel polski, to można domniemywać, że najbardziej komunikatywny dla niego będzie przekaz w języku polskim.*

Z kolei w myśl **art. 4. punkt 4 ustawy** o języku polskim: *Język polski jest językiem urzędowym instytucji powołanych do realizacji określonych zadań publicznych. Szpitale i inne podmioty działające w sektorze ochrony zdrowia z reguły są takimi instytucjami. Jeśli jednak nawet uznać by, że niektóre zakłady pracy zatrudniające diagnostów laboratoryjnych nie wykonują zadań publicznych, to obowiązek opisywania badań po polsku należy wywieść z art. 7 powołanej ustawy. [Na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej w obrocie z udziałem konsumentów oraz przy wykonywaniu przepisów z zakresu prawa pracy używa się języka polskiego, jeżeli: 1) konsument lub osoba świadcząca pracę ma miejsce zamieszkania na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej w chwili zawarcia umowy oraz 2) umowa ma być wykonana lub wykonywana na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej].*

Wobec powyższego należy rekomendować sporządzanie wszelkiej dokumentacji w języku polskim, a kwestię jej przekładów na inne języki pozostawić pacjentom, którzy mogą korzystać z pomocy tłumaczy przysięgłych. ●

INFORMATOR O UCHWAŁACH

ORGANÓW KRAJOWEJ IZBY DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH

Informujemy, że Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych podjęła następujące uchwały i stanowiska:

Posiedzenie X Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych V Kadencji z dnia 2 kwietnia 2020 roku (zdalne):

1. Stanowisko nr 1/V/2020 w sprawie upoważnienia opiekuna medycznego do pobierania materiału biologicznego oraz wykonywania badań laboratoryjnych.
2. Stanowisko nr 2/V/2020 w sprawie braku jednolitej ewidencji, rejestru oraz ustawowego nadzoru nad laboratoriami wykonującymi badania w kierunku SARS-CoV-2.
3. Stanowisko nr 3/V/2020 w sprawie nieuchwalenia do chwili obecnej ustawy o medycynie laboratoryjnej.
4. Stanowisko nr 4/V/2020 w sprawie przekazania dodatkowych środków finansowych na rzecz diagnostów laboratoryjnych biorących udział w walce z epidemią.

Posiedzenie XI Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych V Kadencji z dnia z dnia 29 maja 2020 roku (zdalne):

1. Uchwała nr 90/V/2020 w sprawie zmiany Uchwały nr 1/V/2019 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 14 stycznia 2019 roku w sprawie Regulaminu działania Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych.
2. Uchwała nr 91/V/2020 w sprawie przyjęcia sprawozdania finansowego Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych za rok obrotowy 2019.
3. Uchwały nr 92/1-P/V/2020 do 92/82-P/V/2020 w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych.
4. Uchwała nr 93/V/2020 w sprawie wydawania gazety „Diagnosta laboratoryjny” wyłącznie w formie elektronicznej.
5. Uchwała nr 94/V/2020 w sprawie wyrażenia zgody na przedłużenie Umowy 4/2019 na sprząatanie pomieszczeń siedziby Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych w Warszawie.
6. Uchwała nr 95/V/2020 w sprawie wyrażenia zgody na przedłużenie Umowy 5/2019 o wykonywanie usług portierskich oraz dozoru.
7. Uchwała nr 96 /V/2020 w sprawie zatwierdzenia decyzji Komisji Nagród i Odznaczeń Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych o przyznaniu odznaczenia „Zasłużony Diagnosta Laboratoryjny”, odznaczenia „Dyplom za wzorową pracę” oraz

nagrody pieniężnej dla najlepszego absolwenta kierunku analityka medyczna/ medycyna laboratoryjna.

8. Uchwała nr 98/V/2020 w sprawie zmiany Uchwały nr 48/IV/2015 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 11 grudnia 2015 roku w sprawie Regulaminu wynagradzania w Krajowej Izbie Diagnostów Laboratoryjnych.
9. Uchwała nr 99/V/2020 w sprawie organizacji V Forum Kierowników Medycznych Laboratoriów Diagnostycznych w 2021 roku.
10. Uchwała nr 100/V/2020 w sprawie zmiany Uchwały nr 137/III/2014 KRDL z dnia 22 maja 2014 r. w sprawie Regulaminu prowadzenia ewidencji laboratoriów.
11. Uchwała nr 101/V/2020 w sprawie zmiany uchwały nr 83/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 11 stycznia 2020 roku w sprawie przyjęcia planu dochodów i wydatków Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych na 2020 rok.
12. Uchwała nr 102/V/2020 w sprawie odwołania członków Zespołu Wizytatorów Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych.
13. Uchwała nr 103/V/2020 zmieniającej Uchwałę nr 70/V/2019 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 13 września 2019 roku w sprawie zasad zwrotu utraconego zarobku na rzecz diagnosty laboratoryjnego prowadzącego działalność gospodarczą za okres wykonywania zadań na rzecz samorządu zawodowego oraz zmiany Uchwały nr 45/V/2019 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 7 czerwca 2019 roku w sprawie zmiany Uchwały nr 18/V/2019 roku KRDL z 4 marca 2019 roku w sprawie refundowania kosztów związanych z zadaniami członków Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych a także innych osób zaproszonych lub wykonujących czynności zlecone przez organ Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych.
14. Uchwała nr 104/V/2020 w sprawie wydłużenia terminu składania wniosków o przyznanie nagród za specjalizację.
15. Uchwała nr 105/V/2020 w sprawie odmowy wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych i odmowy stwierdzenia prawa wykonywania zawodu.
16. Uchwała nr 106/V/2020 w sprawie odstąpienia od pobierania składek członkowskich od diagnostów laboratoryjnych, którzy ukończyli 70 rok życia.

**Informujemy, że Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych
podjęło następujące uchwały:**

Posiedzenie XVI Prezydium Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 19 marca 2020 roku (zdalne):

1. Uchwały od nr 70/1-P/V/2020 do nr 70/6-P/V/2020 w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL.
2. Uchwały od nr 71/1-P/V/2020 do nr 71/4-P/V/2020 w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL.
3. Uchwały od nr 72/1-P/V/2020 do nr 72/10-P/V/2020 w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych.
4. Uchwały od nr 73/1-P/V/2020 do nr 73/2-P/V/2020 w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych.

Posiedzenie XVII Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 24 kwietnia 2020 roku (zdalne):

1. Uchwały od nr 74/1-P/V/2020 do nr 74/6-P/V/2020 w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL.

2. Uchwały od nr 75/1-P/V/2020 do nr 75/11-P/V/2020 w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL.
3. Uchwały od nr 76/1-P/V/2020 do nr 76/7-P/V/2020 w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych.
4. Uchwały od nr 77/1-P/V/2020 do nr 77/6-P/V/2020 w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych.

Posiedzenie XVIII Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 28 maja 2020 roku (zdalne):

1. Uchwały od nr 78/1-P/V/2020 w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL.
2. Uchwały od nr 79/1-P/V/2020 do nr 79/6-P/V/2020 w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL.
3. Uchwały od nr 80/1-P/V/2020 do nr 80/12-P/V/2020 w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych.

Szanowni Państwo,

w związku z prowadzonymi działaniami monitorującymi aktualne problemy diagnostów laboratoryjnych zwracamy się z prośbą o sygnalizowanie działań, zachowań lub zaniechań (ze strony pracodawców, organów administracji publicznej np. NFZ), które w Państwa ocenie mogą mieć cechy nierównego traktowania diagnostów laboratoryjnych wobec innych osób wykonujących zawody medyczne, podlegających tym samym normom prawa (np. w świetle prawa pracy, nieuznawania możliwości wypłacania dodatków do wynagrodzeń diagnostom laboratoryjnym na mocy specustawy o COVID).

Zebrane informacje posłużą do podjęcia konkretnych działań o charakterze prawnym w celu zapobiegania praktykom noszącym znamiona dyskryminowania diagnostów laboratoryjnych względem innych osób wykonujących zawody medyczne np. wobec lekarzy, pielęgniarek itd.

Prosimy o przesyłanie informacji w powyższym zakresie wyłącznie na adres:

dyskryminacja@kidl.org.pl

Informujemy, że przesłane przez Państwa informacje będą objęte tajemnicą adwokacką i tajemnicą radcowską.

Z wyrazami szacunku,

dr adw. Maciej Niezabitowski – Koordynator Zespołu Prawnego KIDL

r. pr. Szymon Guzik – Prawnik KIDL



PODZIĘKOWANIE DLA DARCYŃCÓW



#WzywamyPosiłki



Podsumowanie akcji #KremyDlaLaboratoriów

Zakończyliśmy akcję #KremyDlaLaboratoriów. Wysłaliśmy ponad 200 paczek, przede wszystkim do laboratoriów COVID m.in. z kremami ochronnymi.

Ze swojej strony dziękuję darczyńcom, na których pomoc mogliśmy liczyć w czasie pandemii. Dziękujemy również dwóm firmom kurierskim, które prosiły o anonimowość, a pomogły w wysyłce części paczek.

Alina Niewiadomska
Prezes Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych

Diagnostyka SARS-CoV-2 i COVID-19

Kompleksowa oferta Roche Diagnostics

cobas® SARS-CoV-2

cobas SARS-CoV-2 & Inf A/B*
TIB MOLBIOL SARS-CoV-2**

Elecsys Anty-SARS-CoV-2

Koagulologia

D-Dimery

Równowaga kwasowo-zasadowa



Chemia kliniczna

CRP, Ferrytyna, D-Dimery, Albumina, ALT, AST,
Dehydrogenaza mleczanowa, Bilirubina, Glukoza, CK-MB,
Mioglobina, Moczniak, Cystatyna C, Kreatynina

Immunochemia

IL-6, Ferrytyna, PCT, Mioglobina,
TnT-hs, NT-proBNP, HIV, WZW B/C

Diagnostyka molekularna

HIV, WZW B/C, Influenza A/B,
Zapalenie płuc (bakterie, Mycoplasma, Chlamydia),
RSV4, adenowirus

Point of Care

Influenza A/B & RSV, D-Dimery

2020 Roche Diagnostics

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.

ul. Bobrowiecka 8

00-728 Warszawa

+48 22 481 54 00-05

poliska.diagnostics@roche.com

www.roche.pl

*W przygotowaniu

**RUO - tylko do badań naukowych