

DIAGNOSTA

ROK XIII
NR 3(39)
CZERWIEC
2015

ISSN 2084-1663

laboratoryjny

BEZPŁATNA GAZETA KRAJOWEJ IZBY DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH



Jakość w MLD

Diagnostyka gruźlicy



NOWOCZESNE ROZWIĄZANIA DLA TWOJEGO LABORATORIUM

- INDIKO / INDIKO PLUS
- KONELAB PRIME 30/60 ISE

SZEROKA OFERTA ODCZYNNIKÓW

- Biochemia kliniczna
- Toksykologia, leki, immunosupresanty



Indiko

Indiko PLUS



Konelab PRIME 30

Konelab PRIME 60

PROFESJONALNY SERWIS

- Autoryzowany serwis do wszystkich analizatorów Thermo
- Punkty serwisowe w 9 miastach Polski

WYSOKA JAKOŚĆ OBSŁUGI

- Wsparcie merytoryczne i aplikacyjne
- Szybka realizacja zamówień (magazyn odczynników i części zamiennych)

Thermo
SCIENTIFIC
Authorized Distributor

NIEZAWODNOŚĆ



I ZAUFANIE OD 1948

PRODUCENT WIRÓWEK LABORATORYJNYCH





DR ELŻBIETA PUACZ
PREZES KRAJOWEJ
RADY DIAGNOSTÓW
LABORATORYJNYCH

Uribus vinitis – Wspólnymi siłami...

Ostatnie miesiące działalności sejmu VII kadencji obfitują w prace nad nowymi projektami ustaw, które, często pisane w pośpiechu, nie są wolne od wielu uchybień. Tak też było z ustawą o leczeniu niepłodności, której autorzy zapomnieli o regulacjach, jakie niesie ustawa o diagnostyce laboratoryjnej i umożliwiali wykonywanie badań na komórkach rozrodczych oraz zarodkach osobom z wykształceniem biologicznym i biotechnologicznym. Dla twórców rządowego projektu ostrzeżeniem nie stały się nieprawidłowości skutkujące pomyleniem probówek w szczecińskiej klinice andrologicznej. W projektowanej ustawie o leczeniu niepłodności także badania genetyczne powierzone były osobom nieposiadającym statusu osoby wykonującej zawód zaufania publicznego – zawód medyczny. Diagnostów laboratoryjnych, którzy pracują w laboratoriach działających przy ośrodkach rozrodu, tracili prawo wykonywania zawodu, ponieważ według powstającej ustawy nie wykonują czynności diagnostycznych i nie pracują w medycznych laboratoriach diagnostycznych. Przy dużym zaangażowaniu posłów Joanny Muchy, Piotra Chmielowskiego i Stefana Niesiołowskiego oraz po licznych spotkaniach w Ministerstwie Zdrowia udało nam się wprowadzić zmiany, które powodują, że prace na komórkach rozrodczych i zarodkach będą czynnościami diagnostycznymi, a diagnostów pracujących w ośrodkach leczenia niepłodności nie utracą prawa wykonywania zawodu. Badania komórek rozrodczych będą mogły odbywać się tylko w diagnostycznym laboratorium medycznym. Wszystkie te rozwiązania chronią diagnostów laboratoryjnych przed nieuzasadnioną utratą pracy oraz wprowadzają zasady jakości, które obowiązują medyczne laboratoria diagnostyczne.

Spotkanie z Minister Nauki i Szkolnictwa Wyższego prof. Darią Kolarską-Bobińską

Mimo że upłynął już blisko rok od przyjęcia przez Sejm RP nowej ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i przywróceniu w niej stan-

dardów kształcenia dla kierunku analityka medyczna/medycyna laboratoryjna, to Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego nie wydało rozporządzenia opisującego standardy. Mimo interwencji Ministerstwa Zdrowia oraz dziekanów poszczególnych uczelni medycznych, które kształcą przyszłych diagnostów laboratoryjnych, minister Nałęcz wstrzymała prace nad rozporządzeniem w sprawie standardów, usprawiedliwiając to koniecznością zmiany ustawy o diagnostyce laboratoryjnej i wprowadzeniu w niej zmiany nazwy kierunku kształcenia diagnostów na analityka medyczna/medycyna laboratoryjna. Po wielu prośbach doszło do spotkania w tej sprawie z minister Kolarską-Bobińską. W spotkaniu uczestniczyli ze strony samorządu: prezes Elżbieta Puacz, sekretarz Anna Lipnicka i prof. Milena Dąbrowska, oprócz Pani Minister obecny był dyrektor Marcin Czaja. Pani Minister po wysłuchaniu stron i naszych argumentów, ukazujących bezzasadność wstrzymania wydania standardów, obiecała zająć się osobiście sprawą i zorganizować spotkanie z Departamentem Nauki Ministerstwa Zdrowia. Pragnę bardzo serdecznie podziękować Pani prof. Milenie Dąbrowskiej za wielką pomoc we wszystkich negocjacjach z Ministerstwem Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Nowe rekomendacje

Zostały już wydane nowe rekomendacje opracowane przez Polskie Towarzystwo Chorób Płuc i Krajową Izbę Diagnostów Laboratoryjnych *Mikrobiologiczna diagnostyka gruźlicy oraz zasady ochrony pacjentów i pracowników przed zakażeniami wywołanymi prątkami gruźlicy*, których fragmenty zamieszczamy w tym numerze gazety. Obecnie w druku są *Rekomendacje laboratoryjnej diagnostyki zakażeń przewodu pokarmowego bakteriami rosnącymi w warunkach tlenowych oraz*



► mikroaerofilnych, a także *Laboratoryjne oznaczanie alkoholi nie-spożywczych oraz metabolitów alkoholi we krwi i moczu pacjentów w laboratorium medycznym.*

II Forum Kierowników Medycznych Laboratoriów Diagnostycznych

Spotkanie kierowników miało na celu zaprezentowanie aktów prawnych oraz sposobów prowadzenia kontroli jakości w laboratoriach medycznych różnych profili, a także umożliwiło poszukiwanie odpowiedzi na wszelkie pytania, stawiane szefom laboratoriów. Bardzo dziękuję za liczne przybycie i aktywny udział w forum dyskusyjnym. Widząc duże zainteresowanie i liczne pytania w kolejnych numerach DIAGNOSTY LABORATORYJNEGO, w nowym rozdziale poświęconym kontroli jakości będziemy publikować artykuły o przybliżonej tematyce. Cieszę się także, że wspólnie spędzony czas służył integracji Naszego środowiska. Relację zdjęciową z Forum publikujemy oczywiście na stronach DIAGNOSTY oraz na stronie internetowej KIDL-u.

Nowe szkolenia

W miesiącach wakacyjnych w pomieszczeniach naszego budynku wykonana zostanie profesjonalna pracownia mikroskopowa do szkolenia grup 20-osobowych. W pracowni znajdować się będą stoły laboratoryjne oraz zainstalowanych będzie 11 mikroskopów w tym konsultacyjne, monitory telewizyjne etc. Dzięki posiadaniu tej pracowni wprowadzamy do katalogu nowe szkolenia z diagnostyki mikroskopowej chorób infekcyjnych krwi oraz hematologii, diagnostyki płynów, parazytologii. Zachęcamy do przeglądania linku szkolenia. Tematyka ostatniego Forum Kierowników wykazała potrzebę wprowadzenia szkoleń dotyczących sposobów prowadzenia kontroli jakości w różnych profilach medycyny laboratoryjnej, stąd postanowiliśmy otworzyć kolejny rozdział w naszej gazecie poświęcony tej tematyce, zaś od września rozpoczynamy serie szkoleń w siedzibie KIDL oraz poszczególnych województwach.

Obchody Dnia Diagnosty Laboratoryjnego

Ideą przyświecającą ustanowieniu 27 maja Dniem Diagnosty Laboratoryjnego była promocja zawodu diagnosty, popularyzacja znaczenia podstawowych badań diagnostycznych oraz integracja środowiska diagnostów laboratoryjnych. W tym roku wielu diagnostów zorganizowało obchody naszego święta w swoich miastach i zakładach pracy. Centralne obchody wraz z wręczeniem nagród diagnostom laboratoryjnym odbyły się w Zabrzu. Zapraszam do zapoznania się z relacjami obchodów w poszczególnych miastach.

Przyznanie pomocy materialnej rodzinie zmarłego diagnosty laboratoryjnego

17 kwietnia 2015 roku Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych przegłosowała Uchwałę Nr 19/IV/2015 KRDL w sprawie przyjęcia Regulaminu przyznawania rodzinie zmarłego diagnosty laboratoryjnego pomocy materialnej. W przypadku śmierci diagnosty laboratoryjnego rodzinie wypłacana jest jednorazowa pomoc materialna w wysokości 1000 zł. Wnioski o pomoc materialną wraz z kopią aktu zgonu należy składać do Prezesa KRDL-u do 6 miesięcy od śmierci diagnosty laboratoryjnego.

Poselski projekt ustawy o zmianie ustawy o diagnostyce laboratoryjnej

Na początku czerwca Klub Platformy Obywatelskiej skierował do sejmiku projekt ustawy o zmianie ustawy o diagnostyce laboratoryjnej oraz ustawy o działalności leczniczej.

Proponowane zmiany obejmują bardzo ważne aspekty podnoszące znaczenie i prestiż zawodu diagnosty laboratoryjnego oraz warunki jego kształcenia podyplomowego i pracy.

Projekt jest bardzo korzystny dla diagnostów laboratoryjnych oraz funkcjonowania medycznej diagnostyki laboratoryjnej w Polsce. Na stronie KIDL przedstawiałam najważniejsze proponowane zmiany. (pełny druk projektu znajduje się na stronie Sejmu RP)

Lato, lato wreszcie

W pierwszych dniach lata życzę Państwu wielu pięknych, pogodnych dni oraz odpoczynku od codziennych trudów zawodowych w gronie rodziny, przyjaciół i życzliwych ludzi. Zapraszamy diagnostów do spędzenia choć kilku dni z rodziną w siedzibie KIDL-u w Warszawie. Czekają na Państwa 1, 2 i 3-osobowe pokoje z łazienkami, kuchnia z jadalnią oraz pobliskie piękne Stare Miasto, które można zwiedzać podczas relaksującego spaceru.



BEZPŁATNA GAZETA 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, faks: 22 741 21 56

Numer rachunku:
72102010420000880200105692
Bank PKO BP IV Oddział Warszawa

Redakcja:
Elżbieta Puacz – Prezes KRDL
Mariusz Lis – Dyrektor ds. Finansowych
i Rozwoju KIDL
Aleksandra Sobisz – skład merytoryczny

Skład i przygotowanie do druku:
Paweł Kaniuk – www.thorgstudio.pl

Nakład: 11 700 egz.



WYDARZENIA

3 **Uribus vinitis – Wspólnymi siłami...**

dr Elżbieta Puacz

5 **Obchody Dnia Diagnosty Laboratoryjnego w Polsce**8 **II Ogólnopolskie Forum Kierowników MLD**10 **I ogólnopolskie symulacje diagnostyczne**

REKOMENDACJE

11 **Mikrobiologiczna diagnostyka gruźlicy cz. I**

*prof. dr hab. Ewa Augustynowicz-Kopeć
prof. dr hab. Zofia Zwolska*

15 **Lekcja angielskiego**

DIAGNOSTYKA

16 **Nowoczesne metody badania genomu**

prof. dr. hab. n. med. Urszula Demkow

20 **Diagnostyka chorób układu nerwowego przebiegających z przeciwciałami antyneuronalnymi**

*mgr inż. Katarzyna Buska-Pisarek,
dr n. farm. Inż. Patryk Matuszek,
mgr Michał Podkalicki,
mgr Marta Janik,
dr n. med. Małgorzata Klimczak*

KONTROLA JAKOŚCI

24 **Błąd**

dr n. med. Wojciech Gernand

26 **Kontrola jakości na co dzień w laboratorium medycznym – krok pierwszy**

mgr Danuta Kozłowska

29 **Częstotliwość wykonywania badań kontroli jakości**

*Curtis A. Parvin, PhD, John Yundt-Pacheco and
Max Williams*

27 **Kontrola jakości mikrobiologicznych podłoży transportowych według standardu M40-A2**

Monika Stuczeń

OKIEM PRAWNIKA

29 **Podpis elektroniczny w pracy diagnosty laboratoryjnego**

dr inż. Kajetan Wojsyk

32 **Informator o uchwałach organów Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych**

WSPOMNIENIE

34 **Aleksandra Łuszczczyńska**

Obchody Dnia Diagnosty Laboratoryjnego w Polsce

Wzorem lat ubiegłych, również i w tym roku w miesiącu maju i czerwcu, w różnych miastach Polski odbywały się obchody IV Ogólnopolskiego Dnia Diagnosty Laboratoryjnego.

Głównym celem przyświecającym obchodom było promowanie zawodu diagnosty laboratoryjnego oraz przekazanie wiedzy dotyczącej ważnej roli naszego zawodu w procesie diagnostyczno-lecznym. Podczas happeningów diagnosty laboratoryjni informowali pacjentów m.in. jak prawidłowo przygotować się do badań laboratoryjnych, kto może wykonywać badania oraz podkreślali istotną rolę badań we wczesnej diagnostyce chorób i profilaktyce zdrowia.

W ramach obchodów naszego święta w wielu miastach diagnosty zorganizowali bezpłatne badania diagnostyczne dla mieszkańców. Rozdawano materiały informacyjne o zawodzie diagnosty laboratoryjnego i podstawowych zasadach prawidłowego przygotowania się do badań. Wielką popularnością cieszyły się balony z logo KIDL oraz słodkie upominki dla najmłodszych.

Obchody święta 27 maja były także okazją do uhonorowania pracy wyróżniających się diagnostów laboratoryjnych oraz osób szczególnie zasłużonych dla diagnostyki laboratoryjnej.

Poniżej fotorelacje z poszczególnych miast.



6 | Obchody Dnia Diagnosty Laboratoryjnego

Chełm



Jarosław



Kościerzyna



Opole



Radom



Starachowice



Zabrze



Rokietnica



II Ogólnopolskie Forum Kierowników MLD

II Ogólnopolskie Forum Kierowników MLD z tematem przewodnim: "Kontrola jakości w medycznym laboratorium diagnostycznym" cieszyło się dużym zainteresowaniem. Obecność ponad 500 diagnostów świadczy o potrzebie cyklicznego organizowania takich spotkań.

Ciekawe wykłady pozwoliły uczestnikom pogłębić swoją wiedzę i uzyskać odpowiedzi na najbardziej nurtujące pytania, a zaproszenie gości z Republiki Czeskiej umożliwiło zapoznanie się z zasadami funkcjonowania i kontrolą jakości w laboratoriach w tym kraju. Moją uwagę zwróciła również większa niż w roku ubiegłym liczba „młodych” diagnostów. Ważnymi punktami w programie były dyskusje, które podobnie jak na poprzednim Forum były „burzliwe”, ale

merytoryczne. Pozwoliły one na bezpośrednią wymianę doświadczeń i poglądów pomiędzy uczestnikami. Ciekawą innowacją były tematyczne warsztaty panelowe realizowane drugiego dnia. Umożliwiło to przedstawienie problemów nurtujących diagnostów poszczególnych specjalności zaproszonym gościom - osobom mającym wpływ na funkcjonowanie diagnostyki laboratoryjnej w Polsce. Sądzę, że takie wydarzenie jak Ogólnopolskie Forum Kierowników MLD na stałe wpisze

się w kalendarz corocznych spotkań naszej grupy zawodowej.

Elżbieta Borowiec-Domka

Forum było dla mnie ważnym dniem w mojej pracy zawodowej. Dzięki wielu spotkaniom w trakcie konferencji z koleżankami i kolegami mogłam usłyszeć o wielu rzeczach nad którymi codziennie się nie zastanawiam, pozwoliło mi to dostrzec sprawy ważne zanim staną się pilne.



Dzięki takim spotkaniom można zdobyć nową wiedzę, zaktualizować tę już posiadaną, a także dzielić się swoimi spostrzeżeniami w gronie specjalistów, by w efekcie być na bieżąco ze zmianami zachodzącymi w diagnostyce laboratoryjnej. Z mojej perspektywy wiem, że dobrze jest spotkać się z ludźmi z branży, którzy na co dzień borykają się z tymi samymi problemami i wymienić się doświadczeniami.

Ciekawe wykłady i prezentacje pozwoliły wzbogacić warsztat pracy o nowe pomysły!

Forum jest dla mnie spotkaniem wskazującym nie tylko kierunki rozwoju w diagnostyce laboratoryjnej, ale także płynące z wielu stron zagrożenia.

Neoceniona wydaje się także integracja środowiska Diagnostów Laboratoryjnych podczas spotkań towarzyskich w trakcie Forum. Dziękuję organizatorom za ogromne zaangażowanie i profesjonalizm. Do zobaczenia za rok!

Beata Olesiejuk

* * *

Na II Ogólnopolskie Forum Kierowników Medycznych Laboratoriów Diagnostycznych, poruszane były ważne tematy dotyczące kontroli jakości w medycznym laboratorium diagnostycznym oraz aktów prawnych określających sposoby kontroli. Otrzymaliśmy wiele cennych uwag dotyczących jakości w zakresie biochemii, hematologii, immunochemii, serologii grup krwi. Ciekawe również były zagadnienia kontroli jakości w diagnostyce parazytologicznej, cytologicznej oraz genetycznej.

Warsztaty zakończyły się dyskusją na tematy ważne dla diagnostów. Dyskusja była burzliwa, pełna różnych, często kontrowersyjnych wypowiedzi, ale jakże potrzebna.

Mogliśmy się przekonać o różnorodności naszej grupy zawodowej. Wnioski z tej debaty nasuwają się same: wszak wszyscy jesteśmy zrzeszeni w Izbie Diagnostów

i ważne nie są różnice, lecz wspólne interesy. Istotne jest, aby diagności pracowali w godnych warunkach, za odpowiednie do wiedzy wynagrodzenie, według jasnych reguł i aby mieli wsparcie swojej korporacji zawodowej.

Kierownicy laboratoriów chętnie uczestniczą w tego rodzaju spotkaniach ze względu na możliwość wymiany informacji, doświadczeń, jak również poszerzenia wiedzy na temat produktów, odczynników i nowych możliwości w diagnostyce laboratoryjnej.

Na forum nikt się zatem nie nudził, a kolacja i wspólna integracja były uwieńczeniem tego wydarzenia.

Profesjonalna organizacja, wspaniałe miejsce i sympatyczna atmosfera pozostały w nas miłe wspomnienia oraz nadzieję na spotkanie w przyszłym roku.

Renata Staniec



I ogólnopolskie symulacje diagnostyczne

Lubelskie Towarzystwo Studentów Analityki Medycznej to organizacja studencka, działająca przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie już od 5 lat. Powstała jako pierwsza w Polsce, zrzeszając studentów kierunku analityka medyczna.

29 -31.05.2015 to czas ważnych wydarzeń zorganizowanych przez studentów działających w lubelskiej organizacji tj: Jubileusz 20-lecia powstania Oddziału Analityki Medycznej na Uniwersytecie Medycznym w Lublinie, III Ogólnopolska Konferencja LTSAM oraz I Ogólnopolskie Symulacje Diagnostyczne.

W Obchodach Jubileuszu uczestniczyły: władze uczelni, Prezes Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych, społeczność akademicka oraz zaproszeni goście. Gospodarzami Jubileuszu byli Przewod-

nicząca Lubelskiego Towarzystwa Studentów Analityki Medycznej Anna Makuch oraz Dziekan Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej prof. dr hab. Ryszard Kocjan.

W III Ogólnopolskiej Konferencji LTSAM uczestniczyło ponad 150 studentów z całej Polski, wygłoszono 32 referaty związane z diagnostyką laboratoryjną oraz naukami pokrewnymi. Uczestnicy prezentowali wyniki swoich projektów badawczych. Młodzi naukowcy odpowiadali również na pytania związane ze swoją pracą

zadawane przez Komisję Oceniającą oraz osoby zainteresowane zasiadające w auli. Za najlepszą uznano pracę Aleksandry Charchut z Uniwersytetu Jagiellońskiego

Punktem centralnym wśród wydarzeń I Ogólnopolskie Symulacje Diagnostyczne. Symulacje diagnostyczne to pionierski projekt LTSAM, mający na celu postawienie studentów kierunku analityka medyczna/medycyna laboratoryjna przed szeregiem przypadków diagnostycznych, z którymi będą mieli do czynienia w trakcie pracy zawodowej. Zadania uczestników to:

- analiza przypadku na podstawie dostępnych danych i własnej wiedzy,
- przeprowadzenie odpowiedniej procedury diagnostycznej
- interpretacja uzyskanych wyników,
- wykrycie nieprawidłowości i patologii,
- zaprezentowanie wyników komisji oceniającej.

W Symulacji wzięły udział drużyny z: Bydgoszczy, Krakowa, Wrocławia, Szczecina, Katowic, Poznania, Lublina. Przypadki diagnostyczne dotyczyły dziedzin: hematologia, chemia kliniczna, parazytologia, mikrobiologia, biologia molekularna, analityka ogólna z diagnostyką laboratoryjną.

W I Ogólnopolskich Symulacjach Diagnostycznych najlepsza okazała się drużyna z Wrocławia w składzie Magdalena Wybieralska, Anna Markiewicz, Weronika Szecel. II miejsce przydzielono: *ex aequo* Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach (Anna Hołda, Renata Baczynska, Agnieszka Pająk) oraz Uniwersytet Medyczny w Lublinie (Tomasz Flis, Agnieszka Kocia, Elżbieta Kulec).

Wszystkim uczestnikom dziękujemy za udział i trud rywalizacji, zwycięskim drużynom serdecznie gratulujemy a organizatorom winszujemy wspaniałego pomysłu i pięknej organizacji. ■



PROF. DR HAB. EWA AUGUSTYNOWICZ-KOPEĆ,

INSTYTUT GRUŹLICY I CHORÓB PŁUC, WARSZAWA

PROF. DR HAB. ZOFIA ZWOLSKA, INSTYTUT GRUŹLICY I CHORÓB PŁUC, WARSZAWA

Mikrobiologiczna diagnostyka gruźlicy cz. I

Fragment Rekomendacji Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc i Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych pt. „Mikrobiologiczna diagnostyka gruźlicy oraz zasady ochrony pacjentów i pracowników przed zakażeniami wywołanymi prątkami gruźlicy”.

Biologia prątków gruźlicy

Mykobakterie łączą w sobie cechy bakterii i grzybów. Należą do grzybobakterii – rodzina *Mycobacteriaceae* (z greckiego *myces* – grzyb, *bacterium* – pałeczka). Są one spokrewnione z promieniowcami (*Actinomyces*) i maczugowcami (*Corynebacterium*). W języku polskim przyjęto nazywać je prątkami. Są to bakterie tlenowe, wolno rosnące, nie mają zdolności do poruszania się i nie wytwarzają przetrwalników. Prątki są bogate w substancje tłuszczowe, wykazują cechę kwasoodporności w barwieniu fuksyną karbolową, barwią się również fluorochromami, ale nie barwią się metodą Grama. Charakteryzują się polimorfizmem i mają duże wymagania wzrostowe. W zakażonych tkankach ludzi i zwierząt występują w postaci cienkich laseczek, na pożywkach przybierają formy kokoidalne, rozgałęzione lub w postaci sznurów. Nie są wyposażone w rzęski ani otoczki, nie wytwarzają toksyn. W środowisku zewnętrznym, a także w organizmie człowieka lub zwierzęcia, prątki gruźlicy mogą przeżywać w postaci latentnej przez wiele miesięcy a nawet lat. Prątki patogenne dla ludzi i zwierząt określa się jako *Mycobacterium tuberculosis complex*. W skład tej grupy prątków wchodzi 6 gatunków prątków: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, atenuowany szczep *Mycobacterium bovis* BCG, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium canettii* i *Mycobacterium caprae*. Prątki te wywołują gruźlicę nie tylko u ludzi, ale też u wielu gatunków zwierząt hodowlanych i dziko żyjących. Stanowią one niejednorodną grupę pod względem morfologicznym, biochemicznym, różnią się ce-

chami lekooporności, zjadliwości i różnym powinowactwem do rodzaju gospodarza (ludzie, zwierzęta).

Charakterystyczną cechą prątków jest ich wolny wzrost. Czas generacji prątków gruźlicy w optymalnych warunkach hodowlanych wynosi około 24 godzin. Prątki hodowane z materiałów diagnostycznych rosną bardzo wolno (6-10 tygodni). Kolonie mogą być widoczne



gołym okiem po około 2-4 tygodniach. Prątki patogenne rosną tylko na pożywkach wzbogaconych białkiem zwierzęcym. W barwieniu metodą Ziehl-Neelsona (Z-N) prątki wykazują cechę kwasoodporności. Nazwa „prątki kwasoodporne” (ang. *acid fast bacilli*, w skrócie AFB) dla całego rodzaju *Mycobacterium* jest ściśle związana z brakiem reakcji odbarwiania przy pomocy kwaśnego alkoholu komórek zabarwionych uprzednio fuksyną. Prątki wykazują również szczególną oporność na wiele powszechnie stosowanych inhibitorów, środków dezynfekcyjnych, antybiotyków i innych leków. W porównaniu z innymi gatunkami bakterii odznaczają się opornością na szereg czynników destrukcyjnie wpływających na

komórki żywych organizmów, takie jak kwasy, zasady lub detergenty. Są one odporne na wysuszenie i mogą bez aktywnego metabolizmu przeżywać wiele lat. Przyczyną tej dużej oporności jest wysoka zawartość lipidów w komórce, co powoduje hydrofobowy charakter ich ściany komórkowej. Ogranicza to penetrację wodnych roztworów inhibitorów do wnętrza komórki. Prątki wykazują wrażliwość na działanie niektórych czynników chemicznych i fizycznych, takich jak wysoka temperatura i promieniowanie ultrafioletowe.

Niektóre dane epidemiologiczne o gruźlicy w Polsce

Według szacunków WHO w 2012 r. na świecie zachorowało na gruźlicę 8,7 mln osób i zmarło z tego powodu 1,4 mln. W Europie sytuacja epidemiologiczna jest zróżnicowana, od bardzo dobrej w krajach zachodnich (5-15/100 tys.), dobrej w krajach Europy Środkowej (15-30/100 tys.), do złej na Wschodzie (>60/100 tys.). Polska ze wskaźnikiem zapadalności na gruźlicę wynoszącym w 2013 roku 18,8/100 tys. należy do krajów o średniej zapadalności, ale powoli zbliża się do grupy z dobrą sytuacją epidemiologiczną. Aktualnie stwierdza się w Polsce około 8 tysięcy przypadków gruźlicy rocznie. Sytuacja epidemiologiczna w 2013 r. była regionalnie zróżnicowana od 23,9/100 tys. w województwie lubelskim do 9,1/100 tys. w województwie wielkopolskim. Zapadalność na gruźlicę w Polsce wzrasta z wiekiem i blisko połowa chorych jest obecnie w wieku 45-64 lat. Gruźlica u dzieci stanowiła 1,6% (116) ogółu zachorowań.

Ogólnoswiatowe badania wykazują, że częściej na gruźlicę chorują mężczyźni ➔

► w porównaniu z kobietami. W Polsce prze-waga chorych mężczyzn nad kobietami w grupie 50-59 roku życia jest prawie czterokrotna, a w całej populacji ponad dwukrotna (26, 8 vs 11/100 tys. w 2013 roku).

Organizacja sieci laboratoriów prątków w Polsce

Zgodnie z wytycznymi WHO laborato-ria prątka dzieli się na 3 główne kategorie, które różnią się od siebie zakresem wyko-nywanych badań, liczbą personelu specja-listycznego i wyposażeniem.

Laboratoria I rzędu.

Do zadań laboratoriów należy:

- Zbieranie do badań mikrobiologicznych materiałów od chorych i ich rejestrowanie
- Wykonywanie rozmazów i barwienie ich na obecność prątków kwasoopornych (AFB *acid-fast bacilli*)
- Przesyłanie materiałów od chorych wraz z dokumentacją i wynikami AFB do la-boratoriów wyższego rzędu w celu zało-żenia hodowli i wykonania dalszych ba-dań diagnostycznych

- Aktywne uczestniczenie w testach kon-troli jakości badań mikroskopowych
- Uwaga : W Polsce nie ma i nie planuje się otwierania laboratoriów I rzędu.

Laboratoria II rzędu.

Do zadań laboratoriów należy:

- Wykonywanie badań, które stanowią zadania laboratoriów I rzędu
- Zakładanie hodowli i izolowanie szczepów prątków
- Identyfikacja szczepów *M.tuberculosis complex* i wykonanie testów lekowrażliwości na leki podstawowe (INH, RMP, SM, EMB i wg możliwości na PZA)
- Wstępna identyfikacja (do IV Grup Runyona) prątków MOTT
- Przechowywanie szczepów prątków do późniejszych badań, molekularnych dochodzeń epidemiologicznych i weryfikacji wyników
- Regularne poddawanie się kontroli jakości badań mikroskopowych, lekooporności oraz żywności przygotowanych pożywek jajowych

Laboratoria III rzędu.

Do zadań laboratoriów należy:

- Wykonywanie badań, które stanowią zadania laboratoriów I i II rzędu
- Identyfikacja ważniejszych (w patogenezie) gatunków mykobakterii
- Wykonywanie testów lekowrażliwości dla prątków MOTT
- Zdobywanie akredytacji na podstawie jakości i wachlarza badań

Liczba, kompetencje i zakres pracy la-boratoriów powinny być dostosowane do populacji własnego kraju. WHO rekomen-duje otwieranie jednego laboratorium:

- II rzędu na 1 mln mieszkańców
- III rzędu na 3-4 mln mieszkańców

Krajowe referencyjne Laboratorium Prątka (KRLP) pełni nadrzędną rolę w sieci laboratoriów prątka w kraju i jego praca jest weryfikowana przez Ponadnarodowe Labo-ratorium Prątka wyznaczone przez WHO.

Do głównych zadań KRLP należy:

1. Nadzór nad odpowiednim do potrzeb poziomem badań i prowadzenie kon-troli jakości badań wykonywanych w sieci laboratoriów w kraju.

Tabela 1. Wartość metod mikrobiologicznych stosowanych w diagnostyce gruźlicy

Metoda	Czas	Czułość	Swoistość	Ograniczenia
Mikroskopowe badanie rozmazu barwio-nego metodą Ziehl-Neelsena (AFB <i>acid fast bacilli</i>)	1-2 dni	55-90% wzrasta w dobrze wyposażo-nym laboratorium	90-98% wysoka przy bar-wieniu metodą typową dla prątków	Wymaga potwierdzenia w hodowli. Nie odróżnia prątków gruźlicy od gatunków saprofitycznych i środowiskowych.
Posiew konwencjonalny: A*-pożywka L-J z glicerolem B*-pożywka L-J z pirogromianem	3-10 tyg.	65-80% duża	>95% Złoty standard w diagnostyce	Wyhodowane gatunki wymagają typowania
Posiew w systemach automatycznych BACTEC MIGHT 960 itp.	2 dni-6 tyg.	70-85% duża	>95% złoty standard w diagnostyce	Wyhodowane gatunki wymagają typowania
Wykrywanie DNA lub RNA <i>M.tuberc. complex</i> bezpośrednio w materiale od chorego*	1 dzień	85-90% wzrasta przy AFB+	85-95%	Wyizolowane DNA powinno być oczyszczane z inhibitorów reakcji. Wykrywa wszystkie gatunki MTC. PCR nie jest polecany.
Typowanie <i>M. tbc</i> i innych gatunków te-stem niacynowym	1 dzień		>80% test jakościowy	Odróżnia tylko <i>M. tuberculosis</i> od <i>M.bovis</i> i MOTT Konieczna hodowla
Typowanie gatunków metodą HPLC	1 dzień		>95%	Nie rozróżnia niektórych gatunków prątków Konieczna hodowla
Molekularne typowanie podgatunków MOTT**	3 dni		> 80%	Konieczna hodowla
Molekularne dochodzenie epidemiolo-giczne***	3 dni		>95% wysoka	Konieczna hodowla
Identyfikacja nop po szczepieniu BCG	3 dni		95 %	Konieczna hodowla

A* i B * pożywki wykorzystywane do hodowli i różnicowania gatunków *Mycobacterium spp.*

* Należy wykonywać tylko w zamkniętych systemach genetycznych.

** Test zalecany przy leczeniu mykobakterioz.

*** Zalecane przy kontaktach z chorymi prątkującymi.

2. Regularne prowadzenie badań dotyczących częstości występowania gruźlicy lekoopornej. Weryfikacje testów lekooporności u szczepów MDR i XDR.
3. Identyfikacja gatunkowa w obrębie *Mycobacterium tuberculosis* complex i MOTT.
4. Prowadzenie badań weryfikujących transmisje w zakładach opieki zdrowotnej, krzyżowe kontaminacje w laboratoriach i współpraca międzynarodowa.

Badanie mikrobiologiczne w kierunku gruźlicy można wykonać wyłącznie w laboratoriach prątka nadzorowanych przez Krajowe Referencyjne Laboratorium Prątka (KRLP).

Informację o możliwościach diagnostycznych polskich laboratoriów można uzyskać w Krajowym Referencyjnym Laboratorium Prątka w Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc, 01-138 Warszawa, ul. Płocka 26.

Metody mikrobiologiczne stosowane w diagnozowaniu chorych

Metody mikrobiologiczne stanowią złoty standard w rozpoznawaniu gruźlicy. W każdym przypadku podejrzenia gruźlicy należy dążyć do otrzymania wyniku bakteriologicznego, wraz z identyfikacją wyhodowanych prątków i testem lekooporności.

W laboratoriach prątka prowadzi się również diagnostykę mykobakterioz wywołanych przez prątki MOTT (prątki niegruźlicze). Ponieważ wyrastają one na pożywką do hodowli prątków gruźlicy w każdym przypadku otrzymania hodowli należy wykonać identyfikację, aby odróżnić prątki *Mycobacterium tuberculosis* complex od prątków MOTT.

W diagnostyce mikrobiologicznej wykorzystuje się szereg metod, które charakteryzują się różną czułością i swoistością w wykrywaniu prątków gruźlicy oraz czasem niezbędnym do uzyskania wyniku. (Tab. 1).



Rys. 1. Laboratorium prątka.

Wynik badania bakterioskopowego wpływa na wybór dalszych metod diagnostycznych.

U chorych po raz pierwszy diagnozowanych w kierunku gruźlicy należy wykonać badanie bakterioskopowe, molekularne, posiew na pożywkach płynnych i stałych, identyfikację oraz test lekooporności. U chorych ze wznową gruźlicy należy uwzględnić możliwość wystąpienia lekooporności prątków i poza wymienionymi badaniami wykonać molekularny test w kierunku lekooporności.

Ocenę mikrobiologiczną rozpoczyna się od rozmazu barwionego metodą Ziehl-Neelsena (Z-N). Nie wykonuje się tego badania z moczu, w którym często występują prątki saprofityczne. Obecność prątków w rozmazach mikroskopowych narzuca dalszy tok postępowania. Dodatni wynik bakterioskopii wykrywa chorego obficie prątkującego i wymaga wykonania identyfikacji metodą genetyczną prątków widocznych w rozmazie.

Na podstawie wyniku bakterioskopii nie można ani potwierdzić ani wykluczyć

rozpoznania gruźlicy, ponieważ w dodatnim rozmazie mogą być obecne prątki środowiskowe. Przy dodatnim rozmazie należy wykonać badanie genetyczne.

Testy genetyczne nie mogą być wykonywane jako jedyna metoda w diagnostyce gruźlicy, ponieważ nie zastępują innych metod bakteriologicznych, a są jedynie ich uzupełnieniem. W przypadku dodatniego wyniku badania genetycznego musi być zawsze wykonany posiew na pożywki hodowlane płynne i stałe.

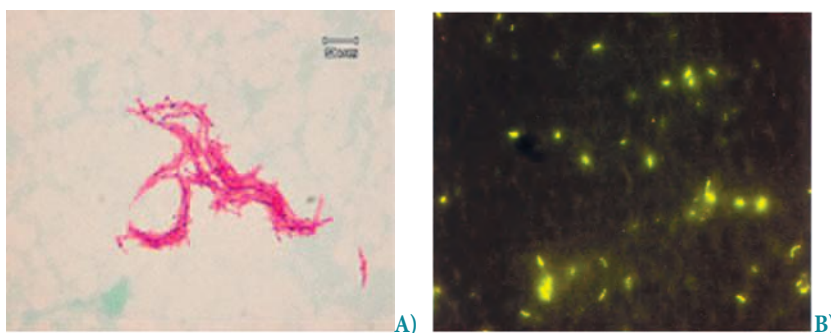
Badanie mikroskopowe i posiew na pożywkach hodowlanych (płynnych i stałych) muszą być wykonane w każdym przypadku podejrzenia gruźlicy, również przy dodatnim wyniku badania genetycznego.

Badania genetyczne w diagnostyce gruźlicy należy wykonywać wyłącznie w zamkniętych systemach, wyposażonych w kontrolę procesów amplifikacji.

Czas wykonania badania genetycznego i rozmazu po uzyskaniu materiału od chorego wynosi 1-2 dni. Metody genetyczne nie są pozbawione wad i mają też swoje ograniczenia. WHO zaleca wykonywanie badań

Tabela 2. Interpretacja wyników badań genetycznych

Bakterioskopia AFB	Badanie genetyczne	
	(+)	(-)
(+)	Aktywna gruźlica chory prątkujący	Należy powtórzyć badanie genetyczne (możliwa obecność w materiale inhibitorów). Jeżeli dwa kolejne badania genetyczne nie wykryją inhibitorów a kolejny wynik badań AFB będzie ujemny to znaczy, że materiale nie ma prątków gruźlicy i prawdopodobnie wykryto obecność prątków MOTT.
(-)	Należy powtórzyć badanie genetyczne. Ponowne otrzymanie dodatniego wyniku badania potwierdza rozpoznanie gruźlicy	Należy powtórzyć badanie genetyczne. Powtórnie ujemny wynik świadczy przeciwko rozpoznaniu gruźlicy, o dalszym leczeniu decyduje obraz kliniczno-radiologiczny.



Rys. 2. Barwienie prątków metodą Ziehl-Neelsena (A) i metodą fluorescencyjną (B).

(np. Middlebrooka). Pożywki te mają swoje wady i zalety. Głównym ograniczeniem stałych pożywek jest długi czas oczekiwania na wynik. Pożywki płynne są bardziej odpowiednie do hodowania prątków z uszkodzonym metabolizmem (np. w trakcie leczenia) oraz materiałów w kierunku diagnostyki gruźlicy pozapłucnej. Pożywki płynne są także pomocne w diagnostyce gruźlicy u osób zakażonych HIV oraz w diagnostyce i monitorowaniu gruźlicy o oporności na leki typu MDR i XDR. Wykonanie testu lekowrażliwości na leki główne jest zalecane u wszystkich nowo wykrytych chorych na gruźlicę, u których wychodowano prątki. Testy na leki dodatkowe są wymagane w przypadkach stwierdzonej wcześniej u chorych lekooporności typu MDR lub XDR oraz gdy chory w przeszłości przyjmował jakiegokolwiek lek dodatkowy.

Szczepy prątków gruźlicy zdiagnozowane w laboratoriach regionalnych jako MDR lub XDR powinny być przed włączeniem leczenia choremu zweryfikowane przez KRLP.

Wykonanie testu lekowrażliwości na główne leki przeciwprątkowe: SM, INH,

genetycznych wyłącznie w zamkniętych, komercyjnych systemach, wyposażonych w kontrole procesów amplifikacji. Gdy w badanym materiale od chorego obecne są inhibitory reakcji amplifikacji można uzyskać wyniki fałszywie ujemne. Jeżeli kliniczne podejrzenie gruźlicy u chorego jest bardzo duże, a wynik badania genetycznego ujemny, należy rozważyć konieczność dodatkowego oczyszczenia materiału z inhibitorów. Fałszywie dodatnie wyniki są stwierdzane głównie przy stosowaniu testów opracowanych samodzielnie w laboratoriach badawczych (tzw. *in-house PCR tests*), które nie mają odpowiedniej standaryzacji do pracy z prątkiem gruźlicy.

W przypadku niezgodności wyników otrzymanych z różnych metod wskazane jest powtórzenie badania genetycznego. Uzyskane wyniki badania bakterioskopowego i genetycznego określa dalsze postępowanie w laboratorium.

Uzyskane wyniki badania bakterioskopowego i genetycznego określają dalsze postępowanie w laboratorium.

Jeżeli wynik testu genetycznego nie odpowiada wynikom innych badań i obja-

wom klinicznym chorego, należy powtórzyć badanie.

Wstępną diagnostykę gruźlicy należy zakończyć po 2 dniach (bakterioskopia i badanie genetyczne), pełną w 21 dni (identyfikacja gatunkowa i test lekooporności).

Wychodowanie prątków gruźlicy na pożywkach bakteriologicznych z materiału pobranego od chorego jest najbardziej pewnym i obiektywnym dowodem na rozpoznanie gruźlicy. Posiewy wykonuje się na pożywkach jajowych (Loewensteina-Jensena, L-J) i pożywkach płynnych



Ryc. 3. Hodowla prątków na pożywce LJ (A) probówki do posiewu w automatycznym systemie Bactec MGIT 960 (B).

Tabela 3. Definicje lekooporności:

Typ lekooporności <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Definicja
Lekooporność pierwotna	Gruźlica wywołana prątkami gruźlicy z kompleksu <i>tuberculosis</i> opornymi na leki przeciwprątkowe.
Lekooporność nabyta	Oporność prątków na jeden lub więcej leków, która powstała w trakcie leczenia.
Lekooporność na jeden lek	Oporność pierwotna lub nabyta na jakiegokolwiek jeden lek.
Lekooporność polilekowa	Oporność pierwotna lub nabyta na więcej niż jeden lek, ale ze wzorami innymi niż MDR.
Lekooporność całkowita	Oporność na leki będąca sumą oporności wszystkich wzorów oporności.
Lekooporność MDR	Oporność na INH+RMP, także w połączeniu z opornością na inne leki.
Lekooporność XDR	Oporność MDR + oporność na fluorochinolon + amikacynę lub kanamycynę.

Tabela 3. Kryteria rozpoznania gruźlicy stosowane po zakończeniu badań diagnostycznych klinicznych i laboratoryjnych wg WHO.

Potwierdzenie gruźlicy u chorego	Wyniki badań
Pewna gruźlica u chorego	Wyhodowanie szczepu prątków gruźlicy lub Dodatni wynik badania bakterioskopowego i wykrycie DNA/ RNA prątków lub Stwierdzenie ziarninaków w badaniu histologicznym i wykrycie DNA/ RNA prątków
Prawdopodobna gruźlica u chorego	Dodatni wynik badania bakterioskopowego lub Wykrycie DNA/ RNA w materiale klinicznym lub Stwierdzenie ziarninaków w badaniu histologicznym i obecność prątków w barwionych wycinkach tkanek
Możliwa gruźlica u chorego	Objawy kliniczne odpowiadające gruźlicy i badania obrazowe sugerujące gruźlicę. Brak potwierdzeń laboratoryjnych.

RMP, EMB i PZA jest wymagane we wszystkich nowych przypadkach zachorowania na gruźlicę, w których prątkowanie potwierdzono metodą hodowli.

Lekooporność powstaje w wyniku selekcji mutantów opornych występujących w każdej populacji prątków, która nigdy nie miała kontaktu z lekami. Lekooporność dzieli się na pierwotną i nabytą (Tabela 3.).

Testy lekooporności wykonywane bez zachowania należytej kontroli jakości mogą dawać błędne wyniki. W Polsce, po-

dobnie jak i w innych krajach europejskich, najczęściej błędnych wyników lekooporności dotyczy streptomycyny i etambutolu.

Testy lekooporności muszą być wykonywane w komorach laminarnych zapewniających trzeci poziom bezpieczeństwa biologicznego.

Testy lekooporności wykonuje się z gęstych zawiesin prątków, używając dużej masy bakteryjnej. Przy przygotowaniu zawiesin i posiewie wytwarza się zakaźny aerozol, który zagraża zdrowiu persone-



Ryc. 4. Komora laminarna III poziom bezpieczeństwa biologicznego.

lu. Ponadto, w takich warunkach istnieje zwiększone ryzyko krzyżowej kontaminacji pomiędzy próbkami, co generuje wyniki fałszywie dodatnie.

Potwierdzenie gruźlicy jest procesem trudnym. Lekarz, analizując wszystkie wyniki badań opiera się na kryteriach opisanych przez WHO. ■

LEKCJA ANGIELSKIEGO – SŁOWA KLUCZOWE

gruźlica	tuberculosis
Gruźlica płuc	pulmonary tuberculosis
Gruźlica pozapłucna	extrapulmonary tuberculosis
Prątki kwasooporne (AFB)	Acid fast bacilli (AFB)
Próba tuberkulinowa	tuberculin skin test
Latentne zakażenie prątkiem gruźlicy	Latent tuberculosis infection
Test z pomiarem wydzielania interferonu gamma (IGRA)	Interferon gamma release assays (IGRA)
Immunoenzymatyczny test aktywacji limfocytów T (ELISPOT)	Enzyme-linked immunosorbent SPOT (ELISPOT)
Prątki atypowe (MOTT)	Mycobacteria other than tuberculosis (MOTT)
Gruźlica wielolekooporna MDR	Multidrug resistance MDR TB
Gruźlica wielolekooporna (oporność rozszerzona) XDR	Extensively drug resistance XDR-TB
Hodowla na pożywce stałej	culture on a solid medium
Hodowla na pożywce płynnej	culture on liquid medium
Laboratoryjne zakażenie krzyżowe	Laboratory cross-contamination
lekooporność	Drug resistance
Bezpośrednio nadzorowane leczenie krótkoterminowe (DOTS)	directly observed treatment short course (DOTS)
drobnocząsteczkowe wysokowydajne filtry powietrza (HEPA)	high efficiency particulate air filter (HEPA)
trzeci poziom bezpieczeństwa biologicznego (BSL3)	bio-safety level (BSL3)
Europejskie Centrum Kontroli i Prewencji Chorób (ECDC)	European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)
Międzynarodowa Unia do Walki z Gruźlicą i Chorobami Płuc (IUATLD)	International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases (IUATLD)



PROF. DR. HAB. N. MED. **URSZULA DEMKOW**
 ZAKŁAD DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ
 I IMMUNOLOGII KLINICZNEJ
 WIEKU ROZWOJOWEGO
 WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY



Nowoczesne metody badania genomu

Ogromny postęp wiedzy w zakresie medycyny molekularnej, jaki dokonał się w ostatnich latach umożliwił bezpośrednie wprowadzenie diagnostyki genetycznej do rutynowej praktyki lekarskiej. Badania genetyczne to jeden z najbardziej obiecujących kierunków rozwoju diagnostyki medycznej. Możliwość precyzyjnego potwierdzenia bądź wykluczenia zaburzeń genetycznych leżących u podłoża choroby i/lub predyspozycji do zachorowania na określone choroby oraz terapia spersonalizowana, dobrana dla potrzeb konkretnego pacjenta, to tylko niektóre możliwości wykorzystania wyników badań genetycznych.

Około 99,9% genomu jest identyczna u wszystkich ludzi. Różnimy się jedynie 0,1% genomu i ta właśnie niewielka część odpowiada za różnice w podatności na różne choroby. U podłoża zmienności genetycznej leży polimorfizm pojedynczych par zasad/mutacje punktowe, delecje i insercje fragmentów DNA, a także segmentalne kopie sekwencji DNA (CNV – *copy-number variation*). Około 90% zmienności ludzkiego genomu zależy od polimorfizmów pojedynczych nukleotydów/mutacji punktowych. CNV również są bardzo liczne (około 12% genomu), często nie manifestują się fenotypowo, mogą jednak zawierać w swojej sekwencji ważne geny, a zatem odpowiadać za podatność i/lub rozwój chorób.

Wybrane metody genetyczne stosowane w diagnostyce laboratoryjnej chorób o podłożu genetycznym są przedstawione w tabeli 1.

Początkowo techniki stosowane w diagnostyce genetycznej wykorzystywały klasyczne metody badania DNA i polegały na wykrywaniu produktu PCR, po elektroforetycznym rozdzieleniu na żelu bezpośrednio lub po trawieniu swoistym enzymem restrykcyjnym. Ze względu na możliwość identyfikacji jedynie pojedynczych polimorfizmów i pracochłonność te metody są obecnie rzadko stosowane.

Metody genetyczne mogą służyć do potwierdzenia mutacji znanych genów oraz do wykrycia nieznanymi wcześniej zaburzeń genetycznych. Obecnie wstępnie poszukuje się mutacji w zakresie zna-

nych genów technikami przesiewowymi, jak na przykład sondy fluorescencyjne typu TaqMan. Oferowane są gotowe zestawy sond dla najważniejszych znanych genów, na przykład do wykrywania mutacji silnie predysponujących do niektórych nowotworów. Podobnie, za pomocą sekwencjonowania sangerowskiego, jesteśmy w stanie potwierdzić wyniki testów przesiewowych oraz wykryć tylko najczęstsze znane defekty genetyczne. W ostatnich latach obserwuje się dynamiczny rozwój metod molekularnych służących do analizy zarówno pojedynczych genów, fragmentów genomu, a nawet całego genomu. Kilkanaście lat temu ludzki genom został całkowicie zsekwencjonowany w ramach Human Genome Project. Od tego czasu wprowadzone nowe metody sekwencjonowania nowej generacji pozwoliły na radykalne obniżenie kosztów badania genomu człowieka, co uczyniło to badanie szeroko dostępnym. Obecnie stosowane metody sekwencjonowania umożliwiają odczytanie pełnej sekwencji genomu za około 2500 USD. Zatem cały genom można już łatwo zbadać, choć rzadko jest to konieczne i z reguły badania genetyczne są celowane. Na potrzeby codziennej praktyki medycznej wystarczające jest badanie eksomu (części genomu kodującej białka) zamiast całego genomu. Eksom stanowi jedynie ok. 2% sekwencji całego genomu, jednak właśnie w obrę-



Tab. 1 Metody genetyczne najczęściej stosowane w diagnostyce laboratoryjnej.

Metoda	Czułość badania	Zastosowanie i uwagi
Analiza kariotypu	≥5 Mb możliwość identyfikacji zmian o wielkości nie mniejszej niż 5 mln par zasad (Mpz)	Określenie liczby i struktury chromosomów; liczbowe i strukturalne aberracje chromosomowe (delekcje, duplikacje, inwersje, translokacje, chromosomy pierścieniowe)
Hybrydyzacja <i>in situ</i> (FISH)	0,04-0,25 Mb	niewidoczne w rutynowym badaniu cytogenetycznym submikroskopowe aberracje, takie jak mikrodelekcje lub mikroduplikacje. Nie jest możliwe określenie liczby kopii badanej sekwencji DNA
Zależna od ligacji multipleksowa amplifikacja sond <i>Multi-plex Ligation-Dependent Probe Amplification</i> (MLPA)	>0,04 Mb	diagnostyka znanych zespołów mikrodelecyjnych (w tym mikrodelekcji/mikroduplikacji w regionach subtelomerowych) ograniczona jedynie liczbą zastosowanych sond w jednym badaniu
Porównawcza hybrydyzacja genomowa z użyciem mikromacierzy (array-CGH, aCGH)	>0,001 Mb	Umożliwia jednoczesną identyfikację aneuploidii, duplikacji, delekcji każdego z reprezentowanych na mikromacierzy <i>loci</i> genowych, z rozdzielczością limitowaną wyłącznie liczbą oraz wielkością sond użytych do konstrukcji mikromacierzy. Służy do badania pojedynczych chromosomów, specyficznych regionów chromosomowych lub całego genomu Jest wykorzystywana w diagnostyce klinicznej chorych z niepełnosprawnością intelektualną, wadami rozwojowymi i dysmorfia
Sekwencjonowanie DNA	Sekwencjonowanie pojedynczych genów metodą Sangera	Technika z wyboru umożliwiająca znalezienie nieznanej mutacji we wskazanym genie
Sekwencjonowanie nowej generacji (next generation sequencing – NGS)	nieograniczona	Możliwość zbadania wybranych paneli genów, całego eksomu lub nawet całego genomu

bie eksomu znajduje się większości mutacji patogennych i wariantów polimorficznych o istotnym znaczeniu klinicznym. Badanie eksomu umożliwia sekwencjonowanie nowej generacji (NGS) – technika, która pozwala na zbadanie wszystkich najważniejszych genów kodujących białka za około 4000 zł. Powszechnie dostępny test TrueSight firmy Illumina umożliwia równoczesne zbadanie około 5000 genów. Klasyczna metoda sekwencjonowania (czyli odczytywania sekwencji informacji genetycznej) opracowana przez Sangera, również jest nadal powszechnie wykorzystywana w rutynowej diagnostyce genetycznej, ale cechuje się małą wydajnością. Jest to najbardziej czuła technika, nadaje się do analizy pojedynczych genów oraz jako test potwierdzenia zmian wykrytych metodą NGS, ale jest droga i mało wydajna i dlatego nie nadaje się do badania wielu genów równocześnie. W praktyce medycznej sekwencjonowanie sangerowskie jest bardzo przydatne do weryfikacji rozpoznania klinicznego ustalonego na podstawie charakterystycznych objawów. Wskazania do diagnostyki genetycznej:

- potwierdzenie wstępnego rozpoznania choroby o podłożu genetycznym, co za-

pewnia odpowiednie leczenie i ewentualną profilaktykę powikłań (na przykład zapobieganie nagłej śmierci łóżeczkowej u dzieci z Zespołem Ondyny, czy nagłemu zatrzymaniu krążenia poprzez wszczepienie defibrylatora/kardiowerte-ra u osób z genetycznie uwarunkowanymi wadami miokardium)

- ocena ciężkości przebiegu choroby i możliwości wystąpienia powikłań
- diagnostyka chorób o niewyjaśnionym podłożu (możliwym genetycznym)

- dobór odpowiedniej, spersonalizowanej terapii (możliwe w przypadku niektórych nowotworów, chorób metabolicznych, neurologicznych)
- ocena zależności pomiędzy genomem a działaniem leków (dobór odpowiedniego leku, odpowiedniej dawki leków, przewidywanie działań niepożądanych lub nieskuteczności terapii)
- ocena ryzyka wystąpienia choroby w przyszłości, w tym nowotworów złośliwych i innych (choroba Alzheimera), ➡



➤ ustalenie genetycznego podłoża nowotworów w przypadku rodzinnej predyspozycji do występowania nowotworów lub gdy u tej samej osoby występują nowotwory różnych narządów lub wczesny wiek zachorowania. Ustalenie dotyczące sposobu leczenia i opieki po leczeniu:

- przebadane powinno być każde dziecko i dorosły z więcej niż jedną wadą rozwojową
- ocena ryzyka wystąpienia choroby genetycznej u zdrowych członków obciążonej rodziny oraz ocena ryzyka wystąpienia choroby u planowanych dzieci
- diagnostyka przyczyn niepowodzeń rozrodu, w tym poronień samoistnych, urodzenia martwego płodu lub niepłodności, zaburzeń rozwoju płciowego, pierwotny brak miesiączki lub nieprawidłowy wynik badania nasienia, w przypadku sporokrewnienia małżonków

U kobiet w ciąży, gdy zaistniało ryzyko, że dziecko jest obciążone chorobą genetyczną

Badania genetyczne wykonuje się tylko raz w życiu, gdyż nie ma możliwości żeby genom zmienił się w trakcie życia człowieka. Wynik badań genetyczny musi zostać opatrzonego szczegółowym komentarzem i przedyskutowany z pacjentem. Informacja uzyskana w Porad-

ni Genetycznej ułatwia rodzinie podejmowanie dalszych życiowych decyzji, w tym dotyczących planowania potomstwa.

W chwili obecnej zidentyfikowano i opisano kilkanaście tysięcy chorób o podłożu genetycznym, będących wskazaniem do wykonania diagnostyki genetycznej (przykłady – tab. 2).

Jeśli a priori nie jesteśmy w stanie z dużym prawdopodobieństwem wskazać defektu konkretnego genu, jedyną metodą wartościową klinicznie, która z wyboru powinna być stosowana w diagnostyce chorób genetycznych o nieznanym podłożu jest sekwencjonowanie nowej generacji (NGS). Niecelowe i ekonomicznie nieuzasadnione jest klasyczne sekwencjonowanie kolejnych genów. Ważnym ograniczeniem w powszechnym zastosowaniu sekwencjonowania genomowego w diagnostyce genetycznej jest analiza otrzymanych wyników, identyfikacja patogennych zmian w genomie i odróżnienie ich od zmian przypadkowych. Sekwencjonowanie genomowe dostarcza olbrzymiej ilości danych, wymagających bardzo pracochłonnej analizy bioinformatycznej.

NGS nie jest metodą pozwalającą na analizę liczby kopii genów. Taką analizę

w obrębie całego genomu umożliwia analiza porównawczej hybrydyzacji genomowej z zastosowaniem mikromacierzy dużej gęstości (aCGH), zawierających sondy odpowiadające poszczególnym fragmentom każdego z chromosomów, ciasno upakowane na powierzchni mikromacierzy. aCGH wykorzystuje zasadę komplementarności odpowiedniego fragmentu DNA do sondy genetycznej. Mikromacierze pozwalają zidentyfikować niewykrywalne metodą sekwencjonowania delecje i duplikacje o wielkości nawet kilkudziesięciu par zasad. Wyniki badań mikromacierzowych generują również bardzo duże ilości danych, które muszą być opracowane przy pomocy metod bioinformatycznych.

Choroby o podłożu genetycznym bardzo często ujawniają się już w najwcześniejszym okresie życia i dlatego badania genetyczne są zlecane przede wszystkim u dzieci i młodzieży. Tego typu diagnostyka powinna się stać narzędziem niemal rutynowym. W naszym kraju istnieje szereg laboratoriów na bardzo dobrym poziomie zarówno publicznych, jak i niepublicznych, specjalizujących się w tego typu badaniach, posiadających wysokiej klasy sprzęt oraz doświadczoną kadrę. Krokiem milowym, który może się przyczynić do uporządko-

Tab. 2 Wybrane zaburzenia będące wskazaniem do badań genetycznych

Dyscyplina kliniczna	Rodzaj zaburzeń
Nowotwory	Rodzinne występowanie nowotworów, rak piersi, jajnika, jelita grubego, siatkówczak. Molekularna diagnostyka nowotworu (w tym białaczek) połączona ze spersonalizowaną terapią, monitorowanie leczenia
Wady wrodzone	Cechy dysmorfii (nietypowe cechy budowy twarzy lub całego ciała)
Neurologia dziecięca i niektóre neurologiczne choroby u dorosłych	Zaburzenia anatomiczne rozwoju układu nerwowego, padaczka oporna na leki, opóźnienie rozwoju psychoruchowego, ataksja, przewlekłe polineuropatie, dystrofie mięśniowe, wrodzona spastyczna paraplegia, dystonia, choroba Parkinsona u dzieci i u młodych, choroby nerwowo-mięśniowe
Psychiatria	Autyzm, niepełnosprawność intelektualna przedwczesna demencja,
Farmakogenomika	Uboeczne działania leków, brak skuteczności działania leków, dobór odpowiedniego leku
Endokrynologia	Cukrzyca u małych dzieci, rodzinna hipercholesterolemia
Kardiologia	Kardiomiopatie szczególnie występujące rodzinie, niektóre zaburzenia rytmu i przewodzenia, tętniaki rozwarstwiające, nagła śmierć sercowa w rodzinie z niewyjaśnionych przyczyn
Laryngologia	Wrodzony niedosłuch, utrata słuchu o niewyjaśnionym podłożu
Okulistyka	Utrata wzroku o niewyjaśnionej przyczynie
Nefrologia	Torbielowatość nerek
Choroby metaboliczne	Choroby neurometaboliczne, choroby spichrzeniowe
Niepłodność	Diagnostyka przyczyn niepłodności u kobiet i mężczyzn, diagnostyka przyczyn utraty ciąży, urodzenia martwego dziecka lub dziecka z wadami wrodzonymi
Diagnostyka prenatalna	Inwazyjna i nieinwazyjna (krążące komórki płodu we krwi matki) ocena zaburzeń genetycznych u płodu
Inne	Ciężkie niezdiagnozowane choroby różnych narządów i układów



wania diagnostyki genetycznej jest przygotowywana przez Ministerstwo Zdrowia ustawa o testach genetycznych. Ustawa ta ograniczy wykonywanie tego typu badań przez nieuprawnione podmioty. Dziś testy genetyczne są oferowane przez internet. Istnieją spółki działające na zasadzie prawa handlowego, które wykonują testy genetyczne nie podlegając żadnej kontroli. Można również zamówić test genetyczny do wykonania we własnym zakresie. Oczywiście skutki takiej diagnostyki mogą być tragiczne. Przydatność wyników jest żadna bez właściwej ich interpretacji i porady genetycznej. W wielu krajach przestrzega się również przed wykorzystywaniem wyników przez towarzystwa ubezpieczeniowe i pracodawców, a także brakiem zapewnienia wysokich standardów ochrony danych genetycznych dla pacjentów i ich krewnych. Gazeta Wyborcza w artykule „Raka szybko przepowiem” przedstawiała problem wykonywania testów genetycznych poza publiczną służbą zdrowia. Taka forma usługi medycznej rodzi wiele zagrożeń dla zdrowia, jak i godności pacjenta, który może być narażony na stres oraz stygmatyzację. Planowana ustawa, poddawana aktualnie konsultacjom przez środowiska do tego upoważnione, przygotowuje podstawy prawnego uregulowania zasad wykonywania diagnostyki genetycznej. Ten niezwykle potrzebny akt prawny stworzy podwaliny pod działania systemowe na rzecz zharmonizowania wykonywania diagnostycznych testów genetycznych. Niezbędne jest promowanie standardów międzynarodowych zapewniających jakość oraz dobrą praktykę laboratoryjną w badaniach genetycznych. Warunkiem uzyskania zgody na wykonywanie testów genetycznych powin-

no być przede wszystkim posiadanie procedur wewnętrznych gwarantujących, że wszelkie badania prowadzone będą zgodnie ze standardami. Konieczne jest również udokumentowanie udziału w zewnętrznych programach zapewniania jakości. Ponadto badania genetyczne powinny być wykonywane przez pracowników posiadających odpowiednie kwalifikacje, a laboratorium musi przestrzegać określonych wymogów dotyczących przechowywania oraz niszczenia wyników badań genetycznych, jak również niszczenia materiału genetycznego.

Bardzo istotny problem w naszym kraju jest bardzo niska dostępność świadczeń refundowanych w zakresie diagnostyki genetycznej, co przy stosunkowo wysokim koszcie badań, ogranicza dostęp do niewielkiej grupy potrzebujących osób, których stać na pokrycie kosztu badania lub uda im się przebić przez system i doczekać w kolejce. Choroby i inne zaburzenia o podłożu genetycznym są w Polsce nadal niedoceniane. Genetykę traktuje się jako badania naukowe jest to czasem badanie podstawowe – pierwsze badanie ratujące życie. Dodatkowo wcześniej wykonane badanie genetyczne może przyczynić się do znacznych oszczędności – tj. ograniczenie konieczności wykonania innych badań, rezygnacji z wieloletniego leczenia

bez efektów, inwalidztwa, a nawet przedwczesnej śmierci. Problemem jest też sposób finansowania badań przez NFZ. Jeżeli NFZ płaci 1000 zł za poradę lekarską oraz badania, w praktyce oznacza to dostęp tylko do najtańszych badań przesiewowych. Sekwencjonowanie nowej generacji oraz testy mikromacierzowe są dla polskich pacjentów praktycznie niedostępne. Dodatkowo niski poziom kontraktowania poradni genetycznych generuje kolejki. Pacjenci wymagający skomplikowanej diagnostyki przy pomocy metod genetycznych są pozostawieni bez pomocy. **Dlatego konieczna jest rzetelna wycena badań genetycznych i urealnienie wyceny świadczeń.**

Istotny jest również problem kształcenia diagnostów i przygotowywania do pracy w laboratoriach diagnostyki genetycznej. Studenci Wydziałów Analityki nie są przygotowywani do pracy w laboratoriach genetycznych. Na studiach nie nabywają nawet podstawowej wiedzy praktycznej w tym zakresie. Programy nauczania nie nadążają zatem za postępem w medycynie i nie pomagają przyszłym diagnostom odnaleźć się na dynamicznie zmieniającym się rynku pracy. Bardzo ważne jest również włączenie genetyki laboratoryjnej do programów specjalizacji dla diagnostów. W najbliższej przyszłości można oczekiwać, że w związku z postępem automatyzacji i konsolidacji badań, potrzeby rynkowe przesuną się z laboratoriów ogólnych, do laboratoriów molekularnych. To jest przyszłość medycyny i przyszłość diagnostyki. ■



MGR INŻ. KATARZYNA BUSKA-PISAREK,
DR N. FARM. INŻ. PATRYK MATUSZEK,
MGR MICHAŁ PODKALICKI,
MGR MARTA JANIK,
DR N. MED. MAŁGORZATA KLIMCZAK
EUROIMMUN POLSKA Sp. z o.o.

Diagnostyka chorób układu nerwowego przebiegających z przeciwciałami antyneuronalnymi

Przeciwciała antyneuronalne (skierowane przeciwko strukturom układu nerwowego) występują w chorobach neurologicznych, neuropsychiatrycznych i nowotworowych, dlatego są one ważnym elementem diagnostyki różnicowej.

Neurologiczne zespoły paranowotworowe (NZP) to neurologiczne powikłania chorób nowotworowych, które nie są bezpośrednio wywołane przez nacieki nowotworowe, ani nie są skutkiem zaburzeń metabolicznych, naczyniowych, powikłań infekcyjnych lub jatrogennych. Często objawy neurologiczne wyprzedzają manifestację kliniczną typową dla danego guza i stanowią jedyne dolegliwości pacjenta, dlatego są powodem poszukiwania pomocy medycznej.

Choroby neuropsychiatryczne o charakterze autoimmunologicznym, w których nie stwierdza się nowotworu będącego

przyczyną pobudzenia układu immunologicznego, również przebiegają z przeciwciałami antyneuronalnymi. Przykładami są: zespół Guillaina-Barrégo, zespół Millera Fishera, neuropatie, Myasthenia gravis, zespół Devica, zespół sztywnego człowieka, autoimmunologiczne zapalenie mózgu. Jedną z postaci klinicznych autoimmunologicznego encephalitis jest zapalenie układu limbicznego (przebiegające z wybitnymi zaburzeniami psychicznymi), które może mieć charakter paranowotworowy, bądź „czysto” autoimmunologiczny.

Z uwagi na złożone i niejednoznaczne objawy (Tabela 1) oraz specjalistyczne badania laboratoryjne do rozpoznania niezbędna jest współpraca psychiatrów, neurologów, onkologów oraz diagnostów.

Patogeneza

Najprawdopodobniej w etiologii NZP kluczową rolę odgrywają mechanizmy immunologiczne.

U pacjentów występuje **krzyżowa reakcja układu odpornościowego wywołana początkowo przez antygeny pierwotnego nowotworu**, a następnie skierowana przeciw antygenom ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Istotną rolę w rozwoju neurodegeneracji odgrywają produkowane przeciwciała onkoneuronalne (antyneuronalne powiązane z obecnością nowotworu) oraz cytotoksyczne limfocyty T. Punktem docelowym odpowiedzi immunologicznej są neurony i komórki gleju większości struktur układu nerwowego, w tym mózdzku i pnia mózgu, układu limbicznego, rdzenia kręgowego, zwojów korzeni grzbietowych i siatkówki. Spośród pacjentów z nowotworami, współwystępowanie neurologicznych zespołów paranowotworowych dotyczy od 1% do 10-15% chorych w zależności od analizowanej grupy.

Właściwe i szybkie rozpoznanie NZP jest kluczowe dla zdrowia, a często i życia chorego. Objawy neurologiczne u 70-80%

Tabela 1. Objawy związane z występowaniem przeciwciał antyneuronalnych

Neurologiczne	Psychiatryczne
zaburzenia ruchowe: trudności z chodzeniem, trudność z podniesieniem jakiegoś przedmiotu	postępujące zaburzenia funkcji poznawczych
dyskinezy: ruchy mimowolne, pływawica, mioklonie	chwilejność emocjonalna
osłabienie siły mięśniowej, niedowłady, porażenia	zaburzenia nastroju i snu
niezborność ruchów, trudności z utrzymaniem równowagi	zaburzenia pamięci
zaburzenia czucia	zaburzenia psychosensoryczne
uogólnione lub częściowe napady padaczkowe	dezorientacja
niewyraźna mowa, trudności z połykaniem	depresja
problemy ze wzrokiem, nagłe niewyraźne widzenie	stany lękowe
zaburzenie widzenia barw, percepcji światła	objawy psychotyczne (omamy wzrokowe i słuchowe)
zaburzenia ruchów oczu, twarzy	urojenia prześladowcze
zaburzenia rytmu serca i oddychania	zaburzenia osobowości
	zaburzenia świadomości

pacjentów wyprzedzają wykrycie nowotworu złośliwego. **Stwierdzenie obecności przeciwciał onkoneuronalnych wskazuje na paraneoplastyczny charakter dolegliwości** i pozwala ukierunkować dalsze badania na poszukiwanie nowotworu, co daje szansę na szybkie wykrycie guza i całkowite wyleczenie.

Kryteria diagnostyczne

W 2004 roku europejska grupa ekspertów zaprezentowała kryteria diagnostyczne rozpoznania neurologicznych zespołów paranowotworowych [1]. Zaproponowany algorytm opiera się na:

- obecności klinicznych objawów zespołów neurologicznych (klasycznych lub nieklasycznych),
- obecności przeciwciał onkoneuronalnych (dokładnie określonych lub częściowo scharakteryzowanych),
- wykryciu nowotworu w związku czasowym z manifestacją neurologiczną (w ciągu 5 lat).

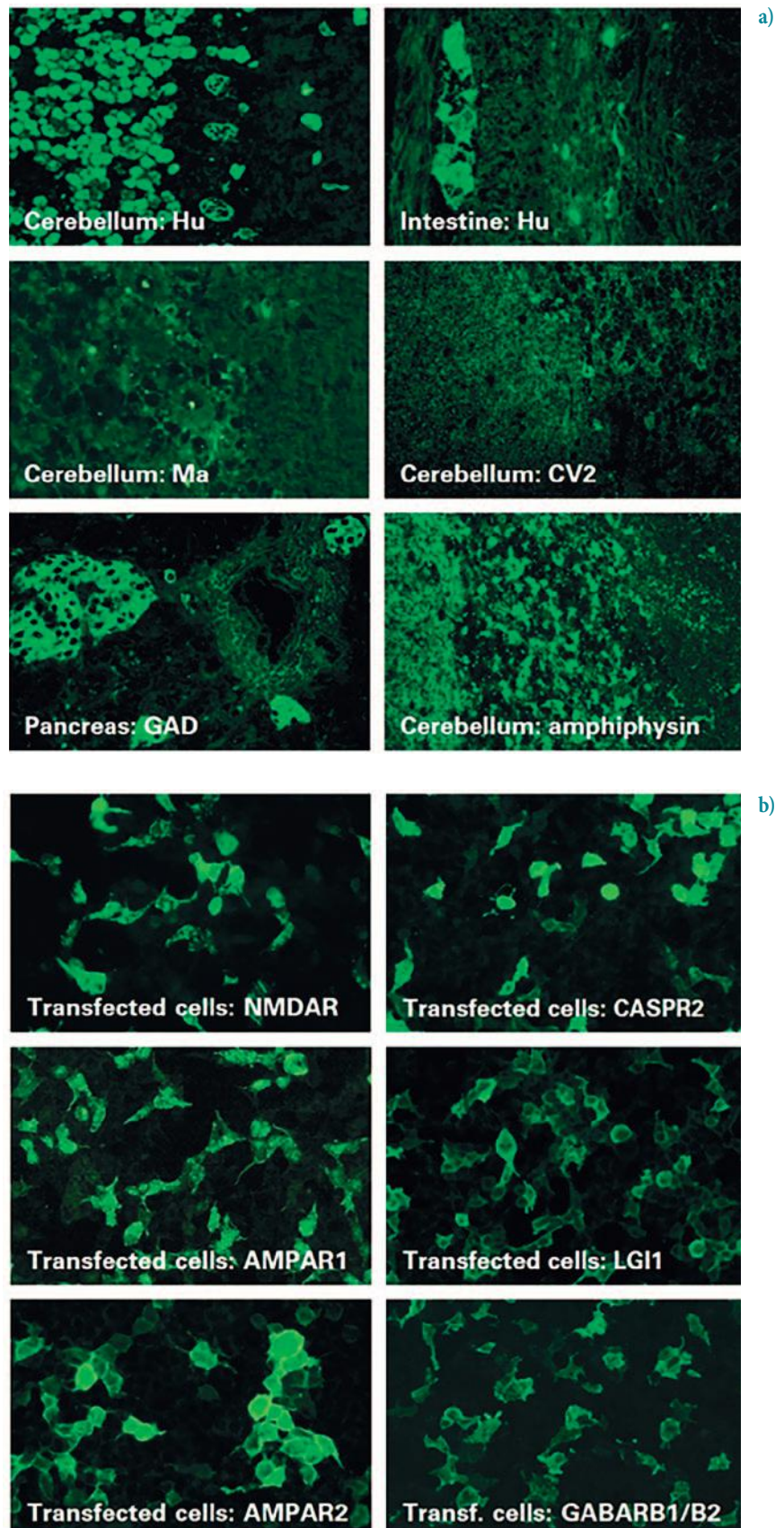
Nowe wytyczne wprowadzają ujednoliconą nomenklaturę: neurologicznych zespołów paranowotworowych (podział na klasyczne i nieklasyczne NZP) oraz podział przeciwciał onkoneuronalnych (na dokładnie określone i częściowo scharakteryzowane). Kryteria pozwalają na klasyfikację chorych do grupy pacjentów z pewnym lub możliwym NZP.

Klasyczne zespoły paranowotworowe to: zapalenie układu limbicznego, paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku, zapalenie pnia mózgu, opsoklonie/mioklonie, podostra neuropatia czuciowa, zespół Lamberta-Eatona, zapalenie skórno-mięśniowe. **Pozostałe (tzw. nieklasyczne) zespoły paranowotworowe** to: retinopatia paranowotworowa, podostra martwiczca mielopatia, choroba neuronu ruchowego, neuropatie demielinizacyjne, neuropatie z utratą aksonów, neuromiotonia i zapalenie wielomięśniowe.

Metody badań

Diagnostyka neurologicznych zespołów paranowotworowych obejmuje oznaczenie w surowicy pacjenta (niekiedy również w płynie mózgowo rdzeniowym) przeciwciał onkoneuronalnych. W tym celu zalecana jest dwutorowa procedura analityczna.

Rys. 1. Detekcja przeciwciał onkoneuronalnych metodą immunofluorescencji pośredniej z zastosowaniem substratów a) tkankowych, b) komórkowych CBA.





rekombinowanych. Dużą zaletą metody CBA jest również szybka i łatwa ocena preparatów. Nie trzeba oceniać tutaj charakterystycznego typu fluorescencji struktur układu nerwowego, jak w przypadku tkanek zwierzęcych, a jedynie stwierdzić reakcję pozytywną lub negatywną (Rys. 1b).

Immunoblot

Zgodnie z zaleceniami Niemieckiego Towarzystwa Neurologicznego, przeciwciała onkoneuronalne powinny być oznaczane dwoma różnymi metodami jednocześnie. Testem, który należy przeprowadzić równolegle jest Immunoblot, stanowiący kolejną, niezależną od immunofluorescencji, półilościową metodę detekcji przeciwciał onkoneuronalnych. Gwarantuje to wysoką specyficzność i czułość oraz umożliwia **dokładne określenie z jakimi przeciwciałami mamy do czynienia**. Obecnie metodą immunoblot możliwa jest detekcja przeciwciał przeciwko antygenom: Hu, Yo, Ri, CV2, Ma, amfifizynie, SOX1, tytynie, Zic4, GAD65, DNER (Tr).

Przeciwciała, których występowanie stwierdzono w przypadku określonych zespołów neurologicznych i nowotworów złośliwych zakwalifikowano do grupy **dokładnie określonych przeciwciał onkoneuronalnych** (ang.: „well characterised” onconeural antibodies). Istnieje możliwość ich oznaczenia dwiema niezależnymi metodami (IIFT oraz Immunoblot). Natomiast pozostałe przeciwciała (przeciwko receptorom powierzchniowym lub kanałom jonowym) obserwo-

➔ Immunofluorescencja pośrednia

Klasyczne badanie metodą immunofluorescencji pośredniej (IIFT) wykonuje się z wykorzystaniem substratów tkankowych (Rys. 1 a). Standardowym substratem do oceny przeciwciał onkoneuronalnych jest **skrawek mózgu małpy** zapewniający podstawowe spektrum antygenów neuronalnych (detekcja przeciwciał anti-Hu, Yo, Ri, CV2, Ma, przeciw amfifizynie). Oprócz mózgu stosuje się również inne tkanki zwierzęce w celu identyfikacji pozostałych przeciwciał, np. nerwy rdzenne (anty-MAG, mielina), jelito – a w nim nerwy bezrdzenne (przeciwciała przeciwko nerwom niemielinowanym), trzustkę (anty-GAD), czy nerw wzrokowy (anty-akwaporyna 4).

Modyfikację tej metody stanowi test IIFT wykorzystujący ludzkie komórki transfekowane plazmidem zawierającym cDNA odpowiedniego antygeny, tzw. **cell based assay (CBA)**. Dzięki tej metodzie możliwa jest wysoka ekspresja danego białka w komórkach, które pierwotnie go nie posiadają. Testy CBA umożliwiają ocenę przeciwciał przeciwko białkom powierzchniowym neuronów, takich jak: NMDA rec., AMPA rec., GABA rec., VGKC (LG11, CASPR2, DPPX), akwaporyna-4. Nie dają one charakterystycznego typu świecenia na substratach tkankowych oraz z powodu skomplikowanej struktury są bardzo trudne do wyprodukowania metodami inżynierii genetycznej w postaci białek

Tabela 2. Podział przeciwciał na dokładnie określone i częściowo scharakteryzowane.

Przeciwciała dokładnie określone (istnieją testy Blot)		Przeciwciała częściowo scharakteryzowane (wykrywane tylko w testach IFA)	
Przeciwciało	Materiał do badania	Przeciwciało	Materiał do badania
Anty-Hu	Surowica	anty-NMDA	Surowica i PMR
Anty-Ri	Surowica	anty-AMPA1/AMPA2	Surowica i PMR
Anty-Yo	Surowica	anty-GABA rec. B	Surowica i PMR
Anty-CV2	Surowica	anty-LG11	Surowica i PMR
Anty-Ma/Ta	Surowica	anty-CASPR2	Surowica i PMR
Anty-Amfifizyna	Surowica	anty-VGKC	Surowica i PMR
Anty-Tr	Surowica	anty-Rekoweryna	Surowica
Anty-SOX 1	Surowica	anty-Tytyna	Surowica
Anty-GAD	Surowica		

wane w badaniu immunofluorescencji pośredniej wyodrębnione zostały w podgrupę **przeciwciał onkoneuronalnych częściowo scharakteryzowanych**, ze względu na brak swoistych testów immunoblot potwierdzających ich obecność (Tabela 2).

Podsumowanie

Diagnostyka przeciwciał onkoneuronalnych stanowi ważne kryterium w diagnostyce NZP.

Wykrycie przeciwciał onkoneuronalnych często wyprzedza objawy związane z pierwotnym nowotworem o miesiące,

a nawet lata, dlatego uznawane są za wczesny marker nowotworowy.

Przeciwciała onkoneuronalne mają kluczowe znaczenie dla rokowania pacjenta, ponieważ ich wykrycie wskazuje na wcześniej nie podejrzaną chorobę nowotworową. Dzięki temu istnieje szansa na wykrycie nowotworu w początkowym stadium i całkowite wyleczenie pacjenta.

Rozpoznanie nowotworu u chorego z NZP pozwala na wprowadzenie odpowiedniego leczenia przeciwnowotworowego, co w konsekwencji pozwala uzyskać poprawę stanu neurologicznego.

Poszczególne rodzaje przeciwciał onkoneuronalnych towarzyszą określonym nowotworom, dlatego pozwalają na celowane poszukiwanie guza. Zależność ta jest na tyle silna, że wcześniejsze wykrycie nowotworu w innej niż spodziewana lokalizacji wskazuje na konieczność poszukiwania pierwotnego nowotworu w innym miejscu.

Powiązanie przeciwciał i nowotworów można wyszukać na stronie **www.anty-neuronalne.pl**.

Przeciwciała antyneuronalne mogą występować również w chorobach neurologicznych bez obecności nowotworu.

PIŚMIENNICTWO

1. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. F. Graus al.. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2004;75:1135-1140. doi: 10.1136/jnnp.2003.034447.
2. Neurologiczne zespoły paraneoplastyczne. S. Michalak, W. Kozubski. Polski Przegląd Neurologiczny, 2008, tom 4, nr 1.
3. Paraneoplastic Syndromes. Leitlinien der Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2008
4. J.Rybacka-Mossakowska, S. Michalak. Znaczenie badań laboratoryjnych w diagnostyce chorób autoimmunologicznych układu nerwowego u dzieci. Diagnosta laboratoryjny; 2015 marzec; 2(38): 24-27.

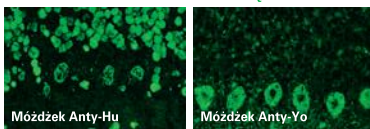
EUROIMMUN POLSKA Sp. z o.o.



Badanie przeciwciał antyneuronalnych

Immunofluorescencja pośrednia

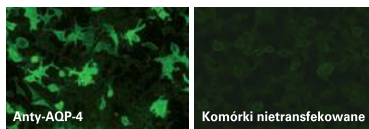
TKANKI ZWIERZĘCE



Dostępne substraty

- Mózg
- Mózdzek
- Trzustka
- Hipokamp
- Nerwy rdzenne
- Nerwy bezrdzenne
- Nerw wzrokowy

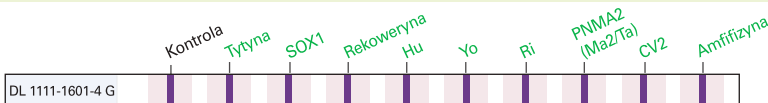
KOMÓRKI TRANSFEKOWANE



Dostępne antygeny

- NMDA rec.
- AMPA 1 rec.
- AMPA 2 rec.
- CASPR2 (VGKC)
- LGI1 (VGKC)
- GABA_B rec.
- GAD 65 kDa
- Akwaporyna 4
- DPPX

BLOT



Neurologiczne zespoły paraneoplastyczne

- Paraneoplastic Neurologic Syndromes
- Neuronal Antigens Profiles

Zapalenie wielomięśniowe

- Myositis Profiles
- Autoimmune Inflammatory Myopathies

Zespół Guillaina-Barrégo, Zespół Millera Fishera, neuropatie

- Gangliosides Profiles



DR N. MED. WOJCIECH GERNAND

BŁĄD



„Błąd” to pradowne słowo, przekleństwo, którego źródło ukryte jest w mrokach dziejów. Etymologiczna ścieżka podana przez Brücknera prowadzi przez starocerkiewne „bladzić” używane na określenie nierządu. Stąd według Brücknera wzięło się ruskie słowo „blad” i określenia „bledzin syn”, „bledyniec”, blednik”, czyli „syn nierządniczy”, występujące u XVII-wiecznych pisarzy, jako wyzwiska ruskie, odpowiadające takim samym polskim.

Słowo „blesti” u Serbów, Słowenów i Czechów miało już lepszy kaliber i oznaczało „pleść od rzeczy”. Widział także Brückner związek słowa błąd z niemieckim „blind” („ślepy”) oraz angielskim „blunder” („błąd”, „błądzić”).

Zagłędając do słownika synonimów w poszukiwaniu lepszego zrozumienia słowa błąd, można przekonać się o jego wszechstronności. Błąd może być rozumiany jako POMYŁKA: potknięcie, literówka, omyłka, lapsus, przejęzyczenie, przekłamanie, qui pro quo, fałszywy krok. Błąd oznaczać może WADE: usterkę, defekt, feler, skazę, uszkodzenie, awarię, zaburzenie, niesprawność, mankament, niepoprawność. W innym kontekście błąd będzie oznaczał NIEDOSKONAŁOŚĆ: ułomność, niewystarczalność, niedostateczność, niekompletność, niepełność, nieprawidłowość, niesprawność, niedokładność, nieścisłość, przybliżenie, zaokrąglenie, niedociągnięcie, niedoróbkę, słabość. Czasem błąd to BRAK: luka, opuszczenie, ubytek, nieistnienie, absencja, nieobecność, niedostatek, niedosyt, głód, niedobór, niedomiar, posucha, manko, deficyt, strata, chybiecie, kiks, szczerba. W końcu bywa, że błąd to WINA: grzech, sprawka, uchybienie, gafa, niedopatrzenie, przeoczenie, wykroczenie, faul.

W krytyce pracy laboratoryjnej, słyszanej niekiedy na korytarzach i w gabinetach zakładów opieki zdrowotnej, **niedoskonałość** miesza się rozmówcom z **pomyłką**, przybiera formę **wady** spowodowanej **brakiem** prawdziwych danych i głosi wszem i wobec **winę** laboratorium za powstały **błąd**. Jak widać, język polski nie sprzyja wykonawcom badań laboratoryjnych, stawiając ich na z góry przegranej pozycji w związku z używanym językiem.

Błąd trywialny

Także sami wykonawcy badań używają słowa błąd w różnym znaczeniu. Po pierwsze odnoszą błąd do niewłaściwego działania. Błąd zostaje popełniony, gdy wykonywana czynność nie spełnia akceptowanych warunków. Bywa, że taki błąd nazywany jest niezgodnością (w domyśle z przyjętymi warunkami granicznymi). Tak rozumiany błąd zajmuje uwagę kontrolerów, audytorów, menadżerów do spraw jakości – ludzi obserwujących procesy realizowane w laboratorium.

Zajmujące jest, że błąd taki nazwany został w przeszłości omyłką lub błędem trywialnym. Napisał Sznajd w swoim monumentalnym dziele: „W toku złożonego postępowania analitycznego, obejmującego wiele czynności i metod oraz znaczną liczbę oznaczeń, może się zdarzyć, że jeden z etapów postępowania lub jedna spośród czynności zostanie bezwiednie wykonana inaczej, niż wymaga tego postępowanie. Sytuację taką, a więc wykonanie czynności lub nawet całego oznaczenia inaczej niż zaplanowano (np. zamiana surowicy), nazywamy pomyłką lub błędem trywialnym”.

Trivium to po łacinie „rozstaje”, „(potrójne) rozdroże”. Słowo stworzone z dwóch innych: tri – trzy, via – droga. W łacinie trivialis oznaczało „będący na rozstajach”. Stąd zrodziło się dzisiejsze znaczenie. Trywialny to inaczej „pospolity”. Trywialność to brak istotności, banalność, błahość, termin oznaczający rzecz małej wagi, nieciekawą. Ale, czy o to chodziło autorowi nazwy? Podejrzewam, że Sznajd przełożył nazwę wprost z angielskiego „trivial error”, wziętego, być może, od Barnetta, którego cytuję w następnym akapicie. Myślę, że określenie to zrodziło się w umyśle oddanym bez reszty pomiarom, dla nazwania pewnych nie-

istotnych, z punktu widzenia metrologii, problemów.

Błąd pomiaru

Drugie rozumienie pojęcia błąd, podstawowe w nauce o pomiarach, jest ściśle ilościowe. Jak czytamy w słowniku definiującym pojęcia metrologiczne: „błąd pomiaru jest różnicą między wynikiem pomiaru a wartością prawdziwą wielkości mierzonej; ponieważ wartość prawdziwa jest z założenia nieznaną, to w praktyce stosuje się przyjętą za należną wartość umownie prawdziwą; na błąd pomiaru składają się obciążające uzyskany wynik błędy przypadkowe i systematyczne”.

Przed wdrożeniem racjonalnego programu kontroli jakości dokonuje się eksperymentalnego oszacowania wielkości błędu pomiaru. Na podstawie zbioru wyników uzyskanych w laboratorium, oblicza się kilka wielkości statystycznych, aby stwierdzić, czy kontrolowana metoda dostarcza wyników obciążonych możliwym do przyjęcia błędem – czy metoda ta jest dokładna. Potem rusza kontrola jakości. Gromadzone wyniki pomiarów kontrolnych zapewniają badaczy, że wszystko działa w sposób należyty. Metody pomiarowe są pod kontrolą, a wiarygodność uzyskiwanych wyników jest gwarantowana.

Dwa światy

Błąd trywialny i błąd pomiaru to pojęcia z dwóch różnych światów. Błąd pomiaru pochodzi z eleganckiego, uporządkowanego, matematycznego, poznanego, opisanego i przewidywanego świata, jaki prezentuje nauka o pomiarach, czyli metrologia. Błąd pomiaru ma swoją definicję, generuje przewidywalny rozkład wyników, można oszacować jego rozmiary i przewidzieć jego konsekwencje.

Błąd trywialny, odrzucony przez metrologów jako coś nieważnego, co nie wiąże się ani z precyzją, ani z poprawnością, trywialny wcale nie jest. Choć nazwany przez naukowców błahostką, jest dla praktyka największym zagrożeniem.

Błąd trywialny pochodzi z przerażającego, bo nieznanego, świata, gdzie nawet drobny ruch skrzydeł motyla wzbudzać może niszczycielskie huragany. Jak zaznacza Sznajd, „częstotliwość błędów wynikających z pomyłki jest trudna do ścisłego oszacowania. Nie ulega wątpliwości, że różni się ona zarówno w poszczególnych działach analityki, jak i poszczególnych laboratoriach. Im większy porządek i staranność panują w laboratorium, tym liczba omyłek powinna być mniejsza. Nie wydaje się jednak możliwe, aby mogła ona być zredukowana do zera. Barnett sądzi, że 1 omyłka na 2000 oznaczeń stanowi absolutne minimum”.

Nie warto się jednak łudzić. To nieprawda, że „częstotliwość błędów wynikających z pomyłki jest trudna do ścisłego oszacowania”. Częstotliwość ta jest **nie-****możliwa do oszacowania**. Tym, co stanowi podstawową, a zarazem najgroźniejszą cechę błędu trywialnego, jest jego **nieprzewidywalność**. Nie znamy rzeczywistego rozkładu błędów trywialnych. Błędy trywialne dewastują wiarygodność laboratorium w każdej jednostkowej sytuacji. Błędy trywialne stwarzają największe zagrożenie bezpieczeństwa pacjentów.

Myszę, że młoda diagnostyczna dusza w to nie uwierzy. Jednak praktyczne uprawianie zawodu ukazuje, jak krucha jest wiedza o błędach trywialnych. Spotykane w literaturze twierdzenia o błędach formułowane są na podstawie ograniczonej liczby informacji. Powstają teorie, wyjaśnienia zjawisk, wytyczne na temat postępowania, jednak, choć brzmią logicznie i spójnie, są retrospektywne i nie chronią nas przed nieznaną groźbą w przyszłości.

Badania laboratoryjne opisane są w tysiącach źródeł. Treści, jakie tam znajdujemy, są najczęściej powierzchowne, teoretyczne, niepełne. Czytamy o chorobach, które powodują zmiany wyników badań. Poznajemy opracowania opisujące czynniki wpływające na wyniki – leki, warunki środowiska, różnice epidemiologiczne itd. Rzadko udaje się trafić na pełny opis badań laboratoryjnych, w którym, obok podstaw teoretycznych i odniesień klinicznych, znajdują się praktycznie użyteczne wskazówki na temat tego, jak poprawnie badanie wykonać, jak uchronić się przed błędem trywialnym.

Indywidualne poszerzanie wiedzy, poprzez lekturę dostępnych publikacji, słuchanie sponsorowanych wykładów i firmowych prezentacji, nie jest niestety dobrym rozwiązaniem. Diagnostyka laboratoryjna jest dziedziną praktyczną, rzemiosłem, w którym wiedza wynika z obserwacji,

a działania z przemyślanego wyboru możliwych rozwiązań. Dziś, w świecie przepełnionym szumem informacyjnym, nachalnym marketingiem, walką mediów o przyciągnięcie uwagi odbiorców, trudno samodzielnie zbudować własny kapitał użytecznej wiedzy. Co jest ważne? O czym powinienem wiedzieć? Gdzie pojawiają się błędy trywialne?

Chwila zastanowienia wystarczy, by zrozumieć, jak ważne jest ciągle przypomnianie sobie o ograniczeniach łatwo dostępnej wiedzy. Studiowanie opracowań akademickich i przyswajanie treści podawanych *ex cathedra*, sprawia, że nabieramy pewności siebie, szczególnie wtedy, gdy nasza biegłość w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej zostaje potwierdzona ozdobnym dyplomem specjalisty. To powszechny błąd poznawczy.

Pomimo zdobytych tytułów, należy stale pamiętać o własnych ograniczeniach. Codzienna praktyka pełna jest okazji do weryfikacji tego, co wiemy. Tkwimy nad rozbieżnymi wynikami badań, a szkolne notatki pokrywa kurz.

Odrobina wyobraźni wystarczy, by wpaść na to, że:

- można podejrzewać, że istnieje szereg zjawisk, o których nawet nie wiemy, że generują błędy trywialne;
- są zjawiska, o których nasza wiedza jest zerowa; nie prowadzono badań nad oddziaływaniami, które mogą wpływać na wyniki badań laboratoryjnych;
- istnieją błędy trywialne, o których mamy tylko częściowe pojęcie, a dostępne publikacje niewiele wnoszą do poznania, prowadząc zwykle do sprzecznych wniosków; niektóre zalecenia oparte bywają na wnioskach z pojedynczych publikacji, pochodzących sprzed kilkadziesiąt lat, cytowanych przez kolejne pokolenia autorów;
- nawet w bardzo dobrze opisanej części wiedzy, istnieją błędne przekonania, utrzymywane przy życiu tylko dlatego, że nie przynoszą wielkich strat indywidualnych.

Wiedza, której pilnie potrzebujemy, której najbardziej nam brakuje na co dzień, to nie książkowa wiedza teoretyczna o badaniach laboratoryjnych, ale taka wiedza, która pozwala unikać błędów, które kiedyś nieopatrnie nazwano trywialnymi. ■



DANUTA KOZŁOWSKA SKARBNIK KRDL, DYREKTOR DS. MEDYCZNYCH

DIAGNOSTYKA SP. Z O.O.

ze współpracownikami: KATARZYNA STEC-GROSMAN, BEATA KOSTRZEWA



Kontrola jakości na co dzień w laboratorium medycznym – Krok pierwszy

„Kontrola Jakości” to zwrot, który nadal jeszcze wzbudza u nas niezrozumiałą rezerwę, a jeszcze w połączeniu z „na co dzień” wolelibyśmy nie mieć z nim kontaktu. Jednak nowoczesne podejście do pracy w laboratorium diagnostycznym narzuca nam z tym tematem bardzo bliski kontakt i przy pozytywnym nastawieniu do zagadnienia widać tylko same korzyści.

Kontrola Jakości to kręgosłup i układ nerwowy laboratorium dostarczający podstawowych informacji do jego prawidłowej pracy i zarządzania. Nie da się w dzisiejszych czasach przy nowoczesnym wyposażeniu laboratoriów przedstawić obiektywnie poziomu kompetencji działania jednostki bez aktualnej i bieżącej analizy wszystkich elementów systemu analitycznego. Zarządzanie poprzez odpowiednią organizację Kontroli Jakości nakłada na nas ustawodawca poprzez regulacje prawne którymi są: Ustawa z dnia 27 lipca 2001 roku o diagnostyce laboratoryjnej* oraz przez dwa Rozporządzenia Ministra Zdrowia (1/ z dnia 23 marca 2006 roku w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych**, 2/ z dnia 21 stycznia 2009 roku zmieniające rozporządzenie w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych***). Drugim aspektem, równie istotnym jest Dobra Praktyka Laboratoryjna (*Good Laboratory Practice*), której celem jest zapewnienie jakości i wiarygodności uzyskiwanych wyników badań od momentu ich planowania aż do wydania sprawozdań – wyników. Dlatego właśnie codziennie wykonywane są w laboratoriach pomiary parametrów w materiałach kontrolnych a uzyskane wyniki poddawane są analizie w celu ustalenia czy metoda funkcjonuje prawidłowo, a tym samym czy wyniki pacjentów jakie uzyska-

my będą adekwatne do ich stanu zdrowia. Podporządkowując się temu trybowi, laboratorium jest zobowiązane do zaplanowania i wykonywania badań w zakresie kontroli wewnątrz i zewnątrzlaboratoryjnej.

Jak zaplanować i prowadzić kontrolę wewnątrz laboratoryjną?

Postęp technologiczny jaki obserwujemy w ostatnich latach, wpłynął na opracowanie metod analitycznych charakteryzujących się bardzo dobrą jakością na poziomie rutynowego wykonywania badań. Stosowane w laboratorium metody pomiarowe nie są często idealne, co staje się widoczne dopiero po dokonaniu pomiaru jakości tych metod przez pracowników danego laboratorium na własnym sprzęcie wg opracowanych procedur. Elementem wyjściowym jest tutaj walidacja metody. Dopiero po sprawdzeniu czy dana metoda spełnia nasze wymagania na zakupionym przez nas sprzęcie i odczynnikach, możemy przystąpić do zaplanowania schematu kontroli jakości. To co jest w tej chwili ogromną pomocą w tym procesie to laboratoryjne systemy informatyczne. Systemy te pozwalają na gromadzenie danych, ich matematyczne i statystyczne obliczenia, na definiowanie dowolnych reguł kontroli, graficzne przedstawianie analiz, a także archiwizację całego procesu kontroli jakości. Patrząc na kontrolę jakości na różnych poziomach możemy mówić o kontroli me-

tody, harmonizacji badań lub kontroli systemu.

Doskonale wiemy, że wynik każdego pomiaru wykonanego w laboratorium, czy to próbki kontrolnej, czy próbki pacjenta, obciążony jest błędem. W konsekwencji tego otrzymujemy wynik który obraca się wokół wartości prawidłowej. Błąd pomiaru jest więc różnicą między wynikiem pomiaru a wartością prawdziwą wielkości mierzonej. Błąd ten oznacza niedoskonałość, której jednak nie jesteśmy w stanie uniknąć, ale możemy ją obserwować i dążyć do minimalizacji wpływu na wartość rzeczywistą. Konieczne jest zatem dążenie aby błąd pomiaru był możliwie jak najmniejszy. Uznaje się, że błąd pomiaru ma dwie składowe: przypadkową i systematyczną.

Według licznych teorii można dobrać różne zmienne, które pozwolą nam scharakteryzować daną metodę. Obecnie coraz powszechniej jako kryteria oceny przyjmuje się trzy główne wielkości: **całkowity dopuszczalny błąd pomiaru TEA** (*total error allowable*, TEA) (wg publikacji lub własnych badań) oraz **nieprecyzyjność** i **obciążenie** (wyznaczone na podstawie własnych badań). Nieprecyzyjność pozwala nam na obserwację błędu przypadkowego, natomiast obciążenie na wykluczenie błędu systematycznego.

Zaprojektowanie prawidłowo funkcjonującego programu kontroli wewnątrzlaboratoryjnej w laboratorium obejmuje

szereg czynności, od wyboru odpowiedniego materiału kontrolnego i określenia wartości całkowitego błędu dopuszczalnego (TEA%) dla poszczególnych parametrów poprzez ustalenie harmonogramu kontroli wewnętrznej, po wykreślenie i prowadzenie odpowiednich kart kontrolnych charakterystycznych dla poszczególnych parametrów i dla ich różnych poziomów kontrolnych kończąc na właściwej wartości tego systemu tzn. analizie i wprowadzeniu poprawek do kolejnych działań. Właściwy wybór granic kontrolnych i reguł interpretacyjnych, weryfikowany poprzez okresową ocenę każdej metody daje pewność, że znajduje się ona pod kontrolą, a wyniki pacjentów są wiarygodne. Mamy więc do czynienia z pewnym współczesnym „perpetuum mobile”.

Jakie narzędzia kontroli jakości zastosować?

Ocena danego parametru odbywa się na bazie danych jakie zbieramy na utworzonych kartach kontroli. W zależności od rodzaju wydawanego wyniku badania możemy rozróżnić parametry oznaczane ilościowo, półilościowo oraz jakościowo. Inaczej wygląda kontrola jakości badań ilościowych, gdzie pod uwagę należy

brać wartości liczbowe i obliczane na ich podstawie parametry pozwalające ocenić jakość metody, a inaczej wygląda kontrola metod nieilościowych, gdzie wartość liczbową wyniku kontrolnego nie ma już takiego znaczenia.

Główną prezentację wyników we wszystkich laboratoriach dla większości parametrów wykonuje się przy użyciu karty Levey-Jenningsa z przyjęciem odpowiednich podstawowych reguł Westgarda. Dobre narzędzie musi pozwalać pracownikom na codzienną łatwą analizę wyników kontrolnych i podjęcie szybkiej decyzji czy uzyskany wynik potwierdza poprawność danej metody, czy może należy podjąć działania naprawcze.

Jaka metoda na jakim typie karty kontroli?

W przypadku parametrów nieilościowych kontrola jakości jest prosta – polega na sprawdzeniu, czy pomiar kontrolny mieści się w granicach wyznaczonych przez producenta kontroli. Wartość liczbową pomiarów jest interpretowana w sposób jakościowy: jako poprawna (mieszcząca się w granicach MIN i MAX, wyznaczonych przez producenta materiału kontrolnego) lub niepoprawna (nie mieszcząca się w tych

granicach). Wartość całkowitego błędu dopuszczalnego TEA% nie ma w tym przypadku znaczenia. Jeśli kolejno uzyskiwane wyniki są poprawne – metodę uznajemy za pozostającą pod kontrolą, jeśli nie – musimy podjąć działania naprawcze.

Inaczej wygląda kontrola jakości metod ilościowych. Wymaga ona trochę więcej uwagi, kilku prostych obliczeń oraz ustalenia indywidualnych reguł interpretacyjnych. Opiera się w pierwszej kolejności na skonstruowaniu karty Levey-Jenningsa, które odbywa się w dwóch etapach:

Przebadanie wybranego materiału kontrolnego w rutynowych warunkach laboratorium w celu scharakteryzowania oczekiwanej zmienności pomiarów i ustalenia oczekiwanego rozkładu wyników pomiarów kontrolnych poprzez obliczenie wartości średniej $\bar{X}$ i odchylenia standardowego SD z **pomiarów wstępnych**,

Wykreślenie karty kontroli **pomiarów właściwych** na podstawie obliczonych z pomiarów wstępnych parametrów – średnia $\bar{X}$ i odchylenie standardowe SD.

Na kartę Levey-Jenningsa nanoszone są kolejne wyniki kontrolne, a ich interpretacja zależy od przyjętych dla danej metody reguł interpretacyjnych. W zależ-



ności od precyzji, uzyskanej z pomiarów wstępnych, reguły te będą się różnić między sobą. Dla metody, która charakteryzuje się dużą precyzją reguły interpretacyjne mogą być bardziej liberalne niż dla metody mniej stabilnej, o szerszym zakresie uzyskanego SD. A zatem niektóre parametry będą musiały przekroczyć 3SD lub nawet 3,5 SD aby uznać je za parametry poza kontrolą, a inne już po przekroczeniu 2SD powinny zmusić pracownika do podjęcia działań naprawczych.

Dla parametrów hematologicznych, których materiały kontrolne cechują się krótkim okresem trwałości materiału kontrolnego bazowanie na dwu – etapowym procesie pomiarów kontrolnych wiązałoby się z częstym przechodzeniem pomiędzy pomiarami wstępnymi a właściwymi. Dla takich parametrów możliwe jest założenie tzw. „krótkich serii” i przejście od razu do pomiarów właściwych w formie karty Levey-Jenningsa z pominięciem wstępnej oceny precyzji i dokładności. Wartość SD potrzebną do skonstruowania karty Levey-Jenningsa uzyskuje się bazując na wcześniejszych wykonanych pomiarach wstępnych dla danego poziomu materiału kontrolnego, a wartość średnią $\bar{X}$ z kilku pierwszych pomiarów nowej „krótkiej serii”.

Niezmiernie ważne jest z praktycznej strony analizy kontroli jakości wykorzystanie możliwości dokumentacji wszelkich niezgodności i działań podejmowanych w przypadku przekroczenia przez wynik kontrolny ustalonych granic. Mówiąc o ocenie wyników kontrolnych możemy rozpatrywać ją na dwóch poziomach:

Codzienną interpretacją pojedynczego wyniku i przydzieleniu go do jednej z dwóch kategorii – wynik poprawny, potwierdzający, że metoda znajduje się pod kontrolą i wynik niepoprawny, wymagający podjęcia działań.

Niezmiernie ważny poziom oceny w czasie – dotyczący stabilności czy zmienności procesu.

Jakie reguły interpretacyjne dla poszczególnych serii pomiarowych?

Wyniki pomiarów kontrolnych nanoszone na odpowiednie karty kontrolne dostarczają na bieżąco informacji o funkcjonowaniu

metody pomiarowej. Osoba nadzorująca działanie metody odpowiada za właściwą interpretację uzyskiwanych wyników kontrolnych i decyduje na bieżąco o tym, czy



metoda pozostaje pod kontrolą, czy znajduje się poza nią.

Istnieje wiele możliwości interpretacji wyników kontrolnych w danej serii pomiarowej. Istnieje cały wachlarz reguł interpretacyjnych, prostych i złożonych, z których należy wybrać reguły najbardziej odpowiednie dla danej metody. Sposób odpowiedniej interpretacji zależy w znacznej mierze od obserwowanej zmienności wyników kontrolnych i oceny metody. Metody charakteryzujące się wysokimi ocenami jakościowymi mogą mieć przypisane mniej restrykcyjne reguły interpretacyjne niż metody o gorszych ocenach. Kierownik Laboratorium jest odpowiedzialny za wybór obowiązujących reguł interpretacyjnych dla poszczególnych parametrów, a osoby wykonujące i akceptujące pomiary kontrolne odpowiadają za ich przestrzeganie. Rutynowo zaleca się korzystanie z jednej z trzech reguł: I_{2s} , $I_{2,5s}$ lub I_{3s} . Wybór odpowiednich reguł interpretacyjnych jest uzależniony od oceny jakości metody pomiarowej. Laboratorium wykorzystuje porównanie podstawowych informacji na temat rozpatrywanej metody, to jest precyzji i poprawności metody ocenionych w laboratorium z dopuszczalnym błędem całkowitym. Całkowite oceny metod powinno się przeprowadzać minimum raz w miesiącu. Na podstawie uzyskanej za poprzednie miesiące i oceny bieżącej jakości metody zaleca się następujące zasady postępowania interpretacyjnego w kolejnym miesiącu. Przykłady omówimy w kolejnym artykule.

Metody pomiarowe różnią się między sobą dokładnością, precyzją oraz wielkością dopuszczalnego błędu całkowitego. Wybór stosowanej dla danej metody reguły interpretacyjnej powinien uwzględniać te różnice. Niewłaściwym podejściem jest stosowanie jednej reguły interpretacyjnej dla wszystkich badanych w laboratorium parametrów. W zależności od krytycznego błędu efektywność reguły będzie różna. Przyjęcie z kolei na początku wdrażania systematycznej kontroli wewnętrznej zbyt restrykcyjnej reguły spowoduje w wielu przypadkach nadmierną ilość fałszywych odrzuceń i zniechęcenie personelu do systematycznych działań.

Podsumowując, wymogi i regulacje prawne a także wymagania teoretyczne dotyczące kontroli jakości w laboratorium medycznym wymuszają stworzenie i używanie odpowiednich narzędzi dla kontroli wewnątrzlaboratoryjnej. Dobre narzędzie musi pozwalać pracownikom na codzienną łatwą analizę wyników kontrolnych i podjęcie szybkiej decyzji czy uzyskany wynik potwierdza poprawność danej metody, czy może należy podjąć działania naprawcze. Warto pamiętać, że powodzenie w działaniu mamy tam, gdzie nasi współpracownicy widzą nasze zainteresowanie. Kontrolę jakości należy prowadzić tak, aby wytworzyć atmosferę zrozumienia konieczności prowadzenia dokładnych zapisów, stworzenie właściwej dokumentacji, która umożliwi właściwą interpretację wewnętrznej kontroli jakości co da bezpieczeństwo pracy diagnostyce laboratoryjnej i zapewni bezpieczeństwo pacjentowi.

Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych postanowiło wprowadzić, do naszej gazety i strony internetowej, cykl wykładów na temat kontroli jakości, a zatem przed nami: omówienie kontroli w oznaczeniach biochemicznych, hematologicznych, koagulologicznych i innych, wybór właściwych metod, materiałów kontrolnych i różnorodnych rozwiązań w tym zakresie. Liczymy na dyskusję w zakresie kontroli jakości, prosimy o kierowanie pytań, nurtujących problemów na adres biura KIDL: ul. Konopacka 4, 03-428 Warszawa oraz na adres zespołu redakcyjnego gazety: redakcja@kidl.org.pl ■

CURTIS A. PARVIN, PHD, JOHN YUNDT-PACHECO AND MAX WILLIAMS

Częstotliwość wykonywania badań kontroli jakości

Kontrola jakości – odstęp czasu a liczba próbek klinicznych i związane z tym ryzyko dla pacjenta

Aktualne przepisy amerykańskie wymagają i określają minimalną częstotliwość przeprowadzania badań kontroli jakości (QC) przez kliniczne laboratoria diagnostyczne, w których badane są próbki pobrane od pacjentów. Regulacja CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) 493.126(d)(3) mówi: „Każdego dnia próbki pacjenta są poddawane analizie po wykonanej uprzednio co najmniej jeden raz: (i) Procedurze ilościowej zawierającej dwa materiały kontrolne o różnych stężeniach; (ii) Procedurze jakościowej zawierającej kontrolę dodatnią i ujemną.”

Mimo że zdarzają się wyjątki od przytoczonego powyżej zapisu, w ogromnej większości normy CLIA dotyczące akceptowanej praktyki QC opierają się na maksymalnym dopuszczalnym przedziale czasowym między poszczególnymi oznaczeniami QC. Laboratoria badające materiał pochodzenia ludzkiego są zobligowane do wykonywania co najmniej dwóch oznaczeń QC dziennie, aby zapewnić podstawy jakości diagnostyki laboratoryjnej oraz zminimalizować ryzyko dla pacjenta.

Częstotliwość wykonywania QC

Częstotliwość wykonywania testów QC można określić na podstawie różnych parametrów – uwzględniając czas pomiędzy kolejnymi oznaczeniami QC lub w odniesieniu do liczby próbek oznaczanych między kolejnymi testami QC. Dwa laboratoria, które wykonują testy QC z tą samą częstotliwością, jeśli chodzi o przedział czasowy, mogą je oznaczać z zupełnie inną częstotliwością, jeżeli uwzględni się liczbę próbek oznaczanych między kolejnymi QC.

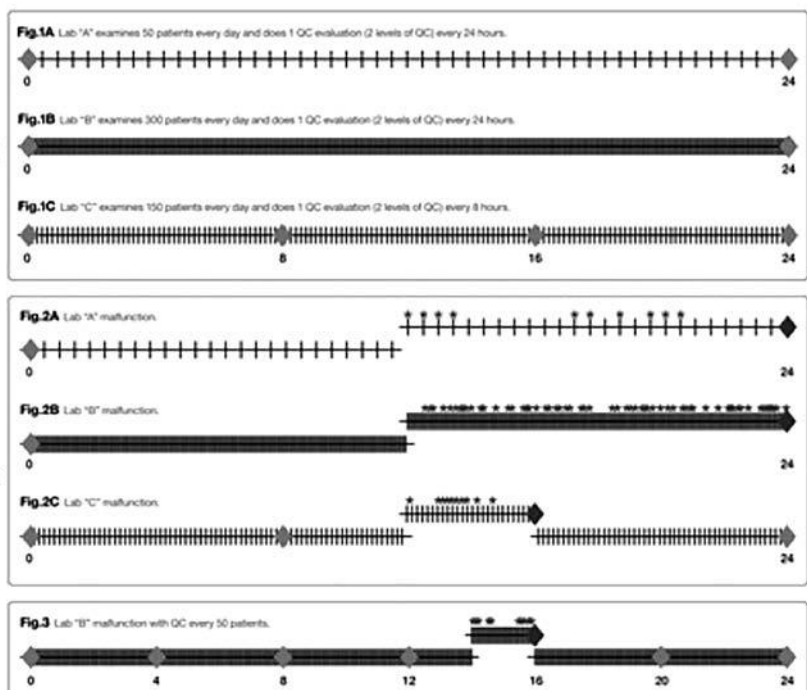
We wcześniejszym artykule z tej serii utrzymywaliśmy, że prawidłowe przeprowadzanie kontroli jakości ma znaczenie dla ryzyka dla pacjenta.¹ Czy z punktu widzenia ryzyka pacjenta istnieje różnica między wykonywaniem QC z częstotliwością określoną przez czas między kolejnymi testami QC, czy zależną od liczby próbek oznaczanych w laboratorium? Odpowiemy na to pytanie, stosując paradygmat ryzyka pacjenta opracowany w poprzednim artykule.²

Ryzyko pacjenta

Rozważmy wpływ, jaki na ryzyko pacjenta mają różne laboratoryjne scenariusze, które różnią się liczbą próbek klinicznych oznaczanych między kolejnymi testami QC i / lub liczbą oznaczeń QC wykonywanych dziennie. Pozwoli to określić, w jaki

sposób determinowana częstotliwość QC ma krytyczne znaczenie. Dla uproszczenia, zakładamy, że próbki pacjentów są oznaczane równomiernie w ciągu dnia i każde laboratorium stosuje te same zasady QC na takim samym analizatorze.

Laboratorium „A” (Ryc. 1A) każdego dnia oznacza dwa poziomy QC oraz około 50 próbek klinicznych dziennie. Na rysunku na osi poziomej znajduje się czas, kreśli pionowe reprezentują próbki pacjentów, romby oznaczają wykonanie QC. Laboratorium „B” (Ryc. 1B) przeprowadza QC z tą samą częstotliwością co Lab „A” w odniesieniu do czasu, z kolei Lab „B” wykonuje średnio 300 oznaczeń próbek klinicznych dziennie. Laboratorium „C” (Ryc. 1C) oznacza dwa poziomy QC co 8 godzin, badając średnio 150 próbek klinicznych dziennie. Lab „C” wykonuje QC z tą



➤ samą częstotliwością co Lab „A” w odniesieniu do liczby próbek badanych między kolejnymi oznaczeniami QC, lecz z różną częstotliwością, jeśli uwzględnimy odstęp czasowy.

Z punktu widzenia CLIA, oba laboratoria: „A” i „B” spełniają wymóg wykonywania co najmniej dwóch oznaczeń QC co 24 godziny, podczas gdy Lab „C” przekracza to minimum, wykonując QC trzy razy na dobę (6 oznaczeń codziennie, 3 razy 2 poziomy QC).

W celu zbadania implikacji z takiej strategii QC spójrzmy, co stanie się w przypadku wystąpienia nietypowego błędu analizatora w ciągu dnia pracy. W przypadku typowej, znanej usterki, w wyniku której powstają nieprawidłowe wyniki, ryzyko dla pacjenta jest niewielkie. Gdy mamy do czynienia z nieznanym rodzajem błędu, zwiększa on znacznie ryzyko pacjenta. Wykrycie punktu, od którego aparat zaczął wydawać błędne wyniki, może być trudne przed wykonaniem kolejnej QC, gdyż rzeczywiste stężenie badanej substancji w próbce pacjenta było nieznanne. Ryc. 2 pokazuje, w jaki sposób w wy-

niku błędu następuje przesunięcie wyników w górę, do tego stopnia, że istnieje 40% szansy, że błąd analityczny w przypadku indywidualnego pacjenta będzie tak duży, że da wynik widocznie nieprawdopodobny (błąd przekracza dopuszczalny błąd całkowity).

Na Ryc. 2 każda gwiazdka odpowiada błędnemu wynikowi pacjenta, jaki powstał w wyniku nierozpoznanego błędu. Błąd wykryty dzięki nieprawidłowemu wynikowi QC jest następnie korygowany i kolejne wyniki są prawidłowe. Podany przykład jest optymistyczny przy założeniu, że pierwsze wykonane oznaczenie QC pozwoliło wykryć błąd. W zależności od wielkości usterki i stosowanych zasad QC, błąd może zostać wykryty dopiero po kilku oznaczeniach QC.

Niewykryty błąd spowoduje powstanie wielu nieprawidłowych wyników próbek pacjentów, tym więcej, im więcej próbek laboratorium oznaczy po wystąpieniu błędu. W przypadku Lab „A” liczba nieprawidłowych wyników jest podobna, jak w Lab „C” (~10 błędnych wyników), lecz Lab „B” wyda 6 razy więcej błędnych wy-

ników niż Lab „A” i Lab „C” (~60 błędnych wyników).

Liczba próbek oznaczanych między kolejnymi QC wynosi 50 w przypadku Lab „A” i „C”, lecz aż 300 w przypadku Lab „B”. Jeżeli Lab „B” bada tę samą ilość próbek klinicznych pomiędzy kolejnymi oznaczeniami QC co Lab „A” (co 50 próbek, lub co 4 godziny w ciągu doby), błąd będzie miał podobny skutek (Ryc. 3). Liczba próbek klinicznych oznaczanych między kolejnymi QC jest czynnikiem krytycznym dla zarządzania ryzykiem uzyskiwania błędnych wyników po wystąpieniu niezidentyfikowanej usterki analizatora.

Curtis A. Parvin, PhD, John Yundt-Pacheco and Max Williams

Tom 20 • wydanie 7 • strona 66

Seria badań nad kontrolą jakości

Nota wydawcy: Jest to czwarta część z wieloczęściowej serii badań mających na celu zapewnienie wysokiej jakości w diagnostyce laboratoryjnej, rozpoczętej w styczniu 2011 roku.

Seria specjalna sponsorowana przez Bio-Rad



PIŚMIENNICTWO

1. Parvin CA, Yundt-Pacheco J, Williams M. The focus of laboratory quality control: Why QC strategies should be designed around the patient, not the in-

strument. *ADVANCE for Administrators of the Laboratory* 2011;20(3):48-9.

2. Parvin CA, Yundt-Pacheco J, Williams M. designing a quality control strategy: In the modern labora-

tory three questions must be answered. *ADVANCE for Administrators of the Laboratory* 2011;20(5):53-4.

Składki – tylko na indywidualne subkonta

Kierujemy ten apel do Państwa po raz kolejny, ponieważ nadal wielu spośród Państwa nie realizuje swoich płatności na indywidualne subkonta. Przypominamy, że przejście na płatności indywidualne jest obligatoryjne i powinno zakończyć się tak szybko, jak to możliwe. W związku z Państwa zapytaniem dotyczącym indywidualnych subkont, w szczególności opisów przelewów na subkontach, informuję, że:

- opisy powinny być krótkie i proste, np.: składka członkowska, składka członkowska plus ubezpieczenie OC
- numer subkonta całkowicie identyfikuje wpłacającego, zatem nie potrzebne są inne informacje (jak imię i nazwisko, adres czy numer PWZDL)
- składki członkowskie sumują się w systemie ciągłym, tzn. do sumy wpłat za poprzednie miesiące dodawana jest wpłata bieżąca – oznacza to, że nie jest konieczne podawanie w opisie za jaki miesiąc wpłacana jest składka. Pozwoli to Państwu na stałe zlecenie bankowe z jednym opisem, bez konieczności modyfikacji tematu przelewu w każdym miesiącu

- ochrona z tytułu ubezpieczenia OC dotyczy tylko tych okresów, w których dokonana została płatność (3 zł) – nie ma zatem możliwości uzupełnienia składek ubezpieczenia OC wstecz
- w przypadku wpłat awansem lub składek zaległych - również wystarczy krótki opis, jak np.: składka członkowska za rok 2014 lub zaległe składki członkowskie
- diagności, którzy płacą 50% składkę (niepracujący emeryci i renciści) również nie muszą tego opisywać – numer subkonta zidentyfikuje ich jako płacących obniżoną składkę
- zakład pracy może nadal opłacać Państwa składki, jeśli zgodzi się przekazywać odrębne przelewy dla każdego diagnosty na jego indywidualne subkonto.

W przypadku jakichkolwiek wątpliwości proszę o kontakt do Biura KIDL pod numerem telefonu: (22) 741 21 55 wew. 114, 200, 130, 131.

Mariusz Lis
Dyrektor ds. Finansowych i Rozwoju, KIDL

DR MONIKA STUCZEŃ

DOKTOR MIKROBIOLOGII MEDYCZNEJ

MEDICAL WIRE & EQUIPMENT LTD, WIELKA BRYTANIA

Kontrola jakości mikrobiologicznych podłoży transportowych według standardu M40-A2

Prawidłowe pobranie oraz transport próbki pacjenta do laboratorium jest niezbędne w celu uzyskania poprawnych wyników diagnostycznych i ustalenia odpowiedniego leczenia, dlatego też, jakość podłoży transportowych jest istotnym lecz często pomijanym aspektem.

W warunkach szpitalnych użycie podłoży transportowych do rutynowych badań mikrobiologicznych rozpoczęło się w momencie, gdy zauważono znaczną różnicę pomiędzy liczbą bakterii posiewanych zaraz po pobraniu próbki, a liczbą bakterii posianych po okresie transportu próbki do laboratorium. Idealne podłoże transportowe powinno pochłaniać próbkę pacjenta zawierającą bakterie, utrzymywać bakterie przy życiu podczas transportu oraz efektywnie uwalniać bakterie z wymazówki do podłoża płynnego lub na podłoże agarowe. Wymienione powyżej aspekty są uwzględnione w jedynym uznanym na świecie standardzie M40-A2 i powinny być brane pod uwagę przy wyborze podłoży transportowych. Nieprawidłowo pobrana i transportowana próbka może doprowadzić do błędnego zdiagnozowania pacjenta i zastosowania nieodpowiedniego leczenia.

Podłoża Transportowe

Podłoża transportowe mają na celu zabezpieczenie materiału badanego przed wpływem otoczenia, zapewnienie odpowiedniej wilgoci i pH dla bakterii podczas transportu. Szereg materiałów, które wciąż są stosowane do produkcji podłoży zawiera składniki hamujące wzrost bakterii. Wymazówki powinny być zatem wykonane z materiału, który nie jest

toksyczny (poliester, sztuczny jedwab, poliuretan). Badania wykazały, że bawełniane waciki oraz drewniane pałeczki używane w niektórych podłożach transportowych zawierają kwasy tłuszczowe, które hamują wzrost szeregu bakterii, dlatego też nie powinny one być używane do transportu mikroorganizmów. Ponadto promieniowanie Gamma używane do sterylizacji podłoży transportowych, zmienia strukturę bawełny czyniąc ją jeszcze bardziej toksyczną. Do roku 2004 na świecie nie istniał żaden standard opisujący jakość podłoży transportowych. W 2004 roku CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) opublikował pierwszy standard kontroli jakości M40-A. W 2014 wydano drugą edycję tego standardu (M40-A2) uwzględniając metodę kontroli jakości nie tylko podłoży agarowych, ale również płynnych podłoży transportowych.

Parametry Kontroli Jakości

Standard M40-A2 wyznacza kryteria, które powinny być brane pod uwagę przy doborze mikrobiologicznych podłoży transportowych. Standard zawiera kryteria kontroli jakości dla producentów, a także pełny protokół kontroli oraz metody (ilościową i jakościową), na podstawie których laboratoria mogą testować podłoża we własnym zakresie. Standard zawiera również kryteria akceptacji nie tylko

dla przeżywalności bakterii, ale również ich przerostu. 10 kontrolnych szczepów bakteryjnych (tlenowych, beztlenowych i fakultatywnych) zawartych jest w standardzie: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® BAA-427), *Streptococcus pyogenes* (ATCC® 19615), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC® 6305), *Haemophilus influenzae* (ATCC® 10211), *Bacteroides fragilis* (ATCC® 25285), *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC® 27337), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC® 25586), *Propionibacterium acnes* (ATCC® 6919), *Prevotella melaninogenica* (ATCC® 25845) i *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC® 43069). Kontrola jakości z użyciem tych szczepów to minimum, które musi być zastosowane przy ocenie produktu zanim zostanie on zatwierdzony do użycia na pacjentach. Aby podłoże zostało zaakceptowane według standardu M40-A2 wszystkie 10 szczepów ➡



➤ musi przeżyć w podłożu przez 48h inkubacji w temperaturze pokojowej oraz 4°C (za wyjątkiem *Neisseria gonorrhoeae* – przeżywalność testowana po 24h inkubacji). Jeżeli producent podłoży deklaruje, że podłoże spełnia wymogi standardu M40-A2 to znaczy, że jest ono w stanie utrzymać przy życiu wszystkie 10 szczepów kontrolnych przez 48h transportu. *Pseudomonas aeruginosa* jest zawarta w standardzie jako wskaźnik przerostu bakterii i powinna być testowana tylko w temperaturze 4°C.

Metoda testowania M40-A2

Standard zawiera 2 metody kontroli jakości: metodę jakościową (roll plate) i metodę ilościową (elution). Obie metody polegają na posianiu wymazówki znaną ilością bakterii, a następnie na określeniu przeżywalności bakterii po 24h i 48h inkubacji w stosunku do czasu zero (posiania). Próbkę są inkubowane w temperaturze (2-8°C) oraz w temperaturze pokojowej (20-25°C).

Aby podłoże spełniało wymogi standardu M40-A2 dla próbek inkubowanych w temperaturze pokojowej liczba bakterii nie powinna zmniejszyć się o więcej niż 3 log pomiędzy czasem zero a 48h. Dla próbek inkubowanych w temperaturze 4°C liczba bakterii nie powinna wzrosnąć o więcej niż 1 log i zmniejszyć się o więcej niż 3log.

Oprócz oceny przeżywalności bakterii standard określa również wymogi dotyczące czystości podłoży. Podłoża żelowe zawierają agar, który jest związkiem organicznym i może być źródłem bakterii. Pomimo sterylizacji promieniami Gamma martwe komórki bakteryjne pozostaną w podłożu i mogą dawać błędny wynik diagnostyczny przy badaniu mikroskopowym. Dlatego też, jest niezwykle istotne, aby podłoża transportowe nie zawierały komórek bakteryjnych. Standard dopuszcza obecność nie więcej niż dwóch komórek bakteryjnych na 10 pól widzenia. Jeśli podłoże zawiera więcej niż

2 komórki nie powinno być dopuszczane do użytku na pacjentach.

M40-A2 jest jedynym standardem uznawanym na świecie i powinien być stosowany w laboratoriach oraz brany pod uwagę przy podejmowaniu decyzji o wyborze mikrobiologicznych podłoży transportowych. Wybór odpowiedniego podłoża spełniającego wymogi M40-A2 daje pewność, że jest ono w stanie utrzymać bakterie przy życiu podczas transportu, a także zabezpiecza przed przerostem bakterii mało wymagających nad bakteriami wymagającymi, przez co ulepsza diagnostykę i leczenie pacjenta. Użycie podłoży, które nie są w stanie utrzymać przy życiu bakterii (szczególnie jeśli bakterie znajdują się w małych ilościach) może doprowadzić do błędnej diagnozy, a w związku z tym wpłynąć negatywnie na dalsze leczenie pacjenta.

Piśmiennictwo dostępne u Autorki.



Podłoża transportowe i wymazówki najwyższej jakości!

- szeroki wybór różnego rodzaju wymazówek i podłoży transportowych
- podłoża transportowe spełniające wymogi standardu CLSI M40-A2
- nowa generacja podłoży Sigma-Transwab® z podłożem płynnym i wymazówką z gąbki
- nowa generacja wymazówek PurFlock® i HydraFlock® zapewniających doskonałą absorpcję i uwalnianie próbki
- zestawy do pobierania prób do badań molekularnych, wirusów, organizmów wymagających





DR INŻ. KAJETAN WOJSYK

CENTRUM SYSTEMÓW INFORMACYJNYCH OCHRONY ZDROWIA



Podpis elektroniczny w pracy diagnosty laboratoryjnego

Elektronizacja wszelkiej dokumentacji (w tym dokumentów tworzonych przez diagnostów laboratoryjnych) ma swój głęboki sens użytkowy i ekonomiczny. Dokumenty elektroniczne są czytelne, mogą być dostępne zdalnie, są też tańsze i łatwiejsze w tworzeniu, przesyłaniu i przechowywaniu, a co najważniejsze, mogą być doskonale zabezpieczone przed nieuprawnioną ingerencją, przed sfałszowaniem. Ich niezaprzeczalną zaletą jest także możliwość automatycznego przetwarzania, dzięki temu, że tworzone są w formacie XML.

Dokument elektroniczny jako taki został zdefiniowany w *Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) NR 910/2014 z dnia 23 lipca 2014 r. w sprawie identyfikacji elektronicznej i usług zaufania w odniesieniu do transakcji elektronicznych na rynku wewnętrznym oraz uchylającym dyrektywę 1999/93/WE (Dz.U.UE.910/2014)*. Zgodnie z definicją podaną w przywołanym rozporządzeniu (zw. dalej eIDAS) **dokument elektroniczny to każda treść przechowywana w postaci elektronicznej, w szczególności tekst lub nagranie dźwiękowe, wizualne lub audiowizualne**. Zwraca się uwagę na fakt, że wymienione rodzaje **form przekazu informacji** (tekst, dźwięk, obraz, film) mogą być dowolne – także mieszane; istotnym wyróżnikiem jest tu **postać elektroniczna**. W przywołanej definicji nie ma mowy o zabezpieczeniu integralności treści dokumentu czy związku z osobą tworzącą go, ani o stosowanym czy wymaganym formacie. Tak pojemna definicja dokumentu wskazuje jedynie, że podstawowym wyróżnikiem jest tu postać, sposób utworzenia i utrwalenia dokumentu jako **pliku elektronicznego**. Zawężenie definicji dokumentu wynikać musi z innych uwarunkowań – przede

wszystkim z **funkcji** danego dokumentu oraz **celu** jego wytworzenia. Ogólnie interesującymi nas dokumentami będą dokumenty stosowane w sferze ochrony zdrowia, a w szczególności – jeśli o diagnostykę laboratoryjną chodzi – sprawozdania z wykonania badań laboratoryjnych. Ogólnie rzecz biorąc, powszechnie, mówiąc o **dokumencie**, mamy na myśli **dowód**, czyli taki dokument, który **niezaprzeczalnie potwierdza stan faktyczny, wskazuje na zaistnienie konkretnych zdarzeń**, również istnienie innych dokumentów, istotny dla poznania i ustalania

faktów mających znaczenie dla załatwienia konkretnej sprawy.

W tym miejscu należy zauważyć, że w polskim systemie prawa dokument definiowany jest znacznie precyzyjniej. Format dokumentu, który ma być przesyłany środkami komunikacji elektronicznej określa wydane na podstawie art. 5 ust. 2a ustawy z dnia 14 lipca 1983 r. o narodowym zasobie archiwalnym i archiwach (Dz. U. z 2006 r. Nr 97, poz. 673, Nr 104, poz. 708 i Nr 170, poz. 1217) Rozporządzenie Ministra Spraw Wewnętrznych i Administracji z dnia 30 października 2006 r. w sprawie **niezbęd-**



► **nych elementów struktury dokumentów elektronicznych** (Dz.U.2006.206.1517). Formatem tym jest XML.

Dla porządku – na powyższym rysunku widoczne są **podpisy własnoręczne**, którymi opatrywane są dokumenty w **postaci elektronicznej**; to nie błąd – podpisy własnoręczne dokumentów elektronicznych składane są z wykorzystaniem specjalnych tabletek, rozróżniających poziom nacisku rysika w trakcie składania podpisu (odwzorowując jego dynamikę) i **zawsze** składane są proceduralnie w obecności osoby przyjmującej dokument, na jej tablecie, po sprawdzeniu tożsamości podpisującego. Chodzi o wizualizację podpisu i możliwość jego złożenia przez każdego, a nie tylko posiadacza certyfikatu; stosowane są w bankach - w praktyce diagnostów laboratoryjnych nie mają zastosowania.

```
<?xml version="1.0" encoding="windows-1250"?>
<Przesyłka xmlns:xsi="http://www.w3.org/2001/XMLSchema-instance"
  xsi:noNamespaceSchemaLocation="Przesyłka.xsd">
  <Formularze>
</Przesyłka>
```

Dokument w formacie XML zawsze składa się z dokładnie jednego **kontenera głównego** (w poniższym przykładzie sprawozdania z wykonania badań laboratoryjnych kontener ten ma nazwę <Przesyłka>; wewnątrz kontenera głównego znajdują się kolejne kontenery zawierające dane. Jednym z nich jest np. kontener <Formularze>. Struktura XML umożliwia łatwe wyodrębnianie z niej danych – i wizualizację tych danych zgodnie z ustalonym wzorem. Nazwa kontenera <Przesyłka> sugeruje intencjonalne przeznaczenie dokumentu zawierającego wyniki badań do przesłania drogą elektroniczną do zleceniodawcy lub udostępnienie wyników badań po podaniu zestawu danych identyfikujących osobę uprawnioną.

Wizualizacje plików XML tworzone są oczywiście dla ludzi, by mogli odczytać dane (w tym przypadku wyniki badań laboratoryjnych), oraz by mogli je wydrukować na tzw. drukarce .PDF (wysłanie zwizualizowanego dokumentu do pliku .PDF) lub w ostateczności na papierze. Z drugiej

strony dane zawarte w pliku w formacie XML mogą być pobierane (wyodrębniane) przez inne systemy, mogą też być przesyłane środkami komunikacji elektronicznej. W tym miejscu należy zwrócić uwagę na *Rozporządzenie Rady Ministrów z dnia 12 kwietnia 2012 r. w sprawie Krajowych Ram Interoperacyjności, minimalnych wymagań dla rejestrów publicznych i wymiany informacji w postaci elektronicznej oraz minimalnych wymagań dla systemów teleinformatycznych* (Dz.U.2012.526 z późn. zm.), zw. dalej KRI, wydanym na podstawie art. 18 ustawy z dnia 17 lutego 2005 r. o informatyzacji działalności podmiotów realizujących zadania publiczne (Dz.U.2014.1114), które reguluje zarówno formaty plików różnego rodzaju i zastosowania dokumentów elektronicznych, jak i formaty stosowanych podpisów elektronicznych. Legalny-

mi formatami podpisów elektronicznych są XAdES, PAdES i CAdES, stosowane zgodnie z *Decyzją Komisji 2011/130/UE z dnia 25 lutego 2011 r. w sprawie ustalenia minimalnych wymagań dotyczących transgranicznego przetwarzania dokumentów podpisanych elektronicznie przez właściwe organy zgodnie z dyrektywą 2006/123/WE Parlamentu Europejskiego i Rady dotyczącą usług na rynku wewnętrznym* (Dz. U. UE L 53 z 25.02.2011, str. 66).

Należy zauważyć, że z uwagi na przepisy eIDAS zawarte w art. 26¹ tego rozporządzenia, określające wymogi dla zaawansowanych podpisów elektronicznych, również takie podpisy mogą być stosowane do podpisywania dokumentów elektronicznych. Istotą podpisu elektronicznego w zastosowaniach dotyczących dokumentów w ochronie zdrowia jest bowiem spełnienie przede wszystkim (niezależnie od pozostałych) dwóch

funkcji: zapewnienia integralności podpisywanego dokumentu i umożliwienie ustalenia tożsamości podpisującego. Ten ostatni wymóg jest kluczowy, gdyż wiąże się z wzięciem odpowiedzialności za treść podpisywanego dokumentu i niemożnością wyparcia się faktu podpisu (tzw. niezaprzeczalność).

Konkretny dokument może być zawsze opisany konkretnymi parametrami, które stanowią o jego wiarygodności, możliwości odczytu, możliwości przesyłania i przechowywania, o relacjach z innymi dokumentami, czasie i miejscu utworzenia, a przede wszystkim o dającym się udowodnić **niezaprzeczalnym** powiązaniu z podpisującym go osobą. W przypadku dokumentacji medycznej oraz wszelkich dokumentów zawierających dane osobowe dochodzi jeszcze element regulacji dostępności treści dokumentów dla osób uprawnionych i skutecznej jej ochrony przed ujawnieniem osobom nieuprawnionym.

Jak już wspomniano, dokumenty elektroniczne posiadają cechy umożliwiające skuteczne nimi zarządzanie i zapewnienie bezpieczeństwa informacjom zawartym w tych dokumentach.

Jeśli zatem uwzględnić główne elementy konstytuujące dokument (forma, postać, podpis), środki zapewnienia jego integralności oraz środki komunikacji między twórcą dokumentu a jego odbiorcą można całość przedstawić jako **e-usługę** świadczoną **usługobiorcy** przez **usługodawcę** środkami komunikacji elektronicznej przy wykorzystaniu **dokumentu elektronicznego**.

Autorowi niniejszego artykułu (jak zapewne każdemu) zdarzało się oddawać materiał do badań laboratoryjnych – i wyniki

Ogólne Szczegóły	
Pole	Wartość
Podmiot	
Klucz publiczny	RSA (2048)
Alternatywna nazwa podmiotu	
Podstawowe użycie klucza	Niezaprzeczalność
Zasady certyfikatu	1.2.816.1.113571.1.1
QC Statements	
Algorytm odcisku palca	SHA-1
Odcisk palca	0f c3 0b b9 d8 30 ac a6 69 aa 7...

1 Zaawansowany podpis elektroniczny musi spełniać następujące wymogi:

- jest unikalnie przyporządkowany podpisującemu;
- umożliwia ustalenie tożsamości podpisującego;
- jest składany przy użyciu danych służących do składania podpisu elektronicznego, których podpisujący może, z dużą dozą pewności, użyć pod wyłączną swoją kontrolą; oraz
- jest powiązany z danymi podpisanymi w taki sposób, że każda późniejsza zmiana danych jest rozpoznawalna.

badania otrzymywać na papierze, w otwartej kopercie – za pośrednictwem pracownicy rejestracji. Na pytanie (przy oddawaniu materiału do badań) – czy można byłoby otrzymać wyniki w postaci elektronicznej, padała odpowiedź że niestety, jeszcze nie... To pokazuje, jak wiele jeszcze jest do zrobienia w tej materii w niektórych przedsiębiorstwach podmiotów leczniczych, skoro istnieją już dzisiaj laboratoria, umożliwiające zdalne pobranie wyników badań.

Generalnie zatem – w związku z elektroniczną dokumentacją medyczną – niezbędne i możliwe jest już dzisiaj tworzenie dokumentów elektronicznych, do których dostęp mógłby mieć każdy **uprawniony** posiadacz Internetowego Konta Pacjenta (oczywiście chodzi wyłącznie o dostęp do własnych dokumentów!), kiedy zostanie ono udostępnione. Posiadanie tego konta nie jest konieczne, gdyż dla osób preferujących dokumenty papierowe zawsze istniałaby możliwość dokonania przez pracownika medycznego wydruku, potwierdzonego za zgodność z oryginałem, jednak dla wszystkich posiadaczy IKP stanowiłoby istotną korzyść.

Problemem, który ciągle jeszcze powraca w dyskusjach, jest „pisemność” oraz zapewnienie wiarygodności dokumentu, jakim jest sprawozdanie z badań laboratoryjnych. Dokumenty muszą być w formie pisemnej. To oczywiste – ich treść tylko w takiej formie nadaje się do odczytania i zrozumienia. Co to jednak oznacza – „w formie pisemnej”? Czy dokumenty tekstowe całkowicie wytworzone elektronicznie i elektronicznie podpisane są „pisemne”? Oczywiście tak. W dyrektywie nr 2014/24/UE z dnia 26 lutego 2014 r. w sprawie udzielania zamówień publicznych, w art. 2 ust. 1 pkt 18 i 19 czytamy, że „*pisemne*” lub „*na piśmie*” oznacza każde wyrażenie złożone ze słów lub cyfr, które można odczytać, powielić, a następnie przekazać, w tym informacje przesyłane i przechowywane za pomocą środków elektronicznych, zaś „*środki elektroniczne*” oznaczają sprzęt elektroniczny do przetwarzania (w tym także kompresji cyfrowej) i przechowywania danych, które są przesyłane, przekazywane i odbierane za pomocą przewodów, fal radiowych, środków optycznych lub innych środków elektromagnetycznych.

Definicja ta wyraźnie wskazuje na sposób przekazu informacji – „...wyrażenie

złożone ze słów lub cyfr...”. Identyczne definicje pisemności znalazłbyśmy także w innych dyrektywach europejskich. Są to definicje dostosowane już do dzisiejszych realiów – gdyż pozwalają na wykorzystanie teleinformatyki w procesie przekazywania dokumentów podpisanych elektronicznie.

Podsumowując – dokument elektroniczny, z uwagi na swoje właściwości powinien być jak najszerzej stosowany – szczególnie w sytuacjach, gdy istotne jest szybkie dostarczenie go do odbiorcy z zapewnieniem czytelności i integralności.

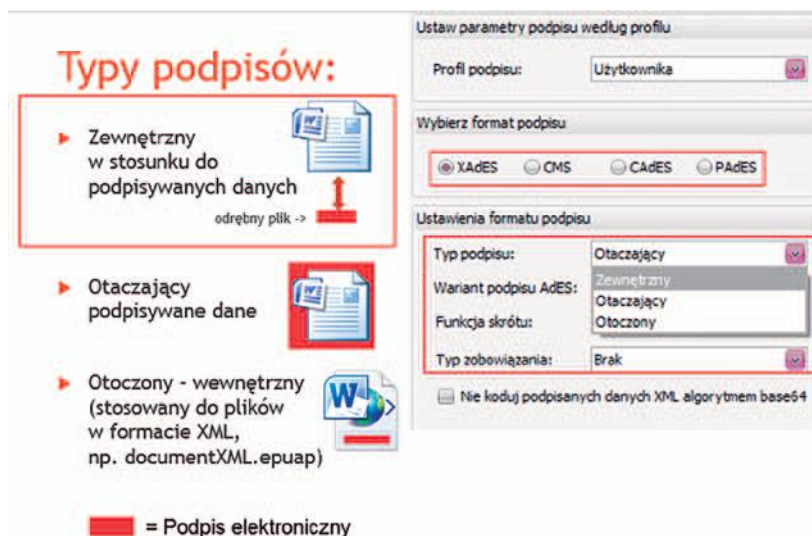
Wykorzystanie podpisu elektronicznego w pracy diagnosty laboratoryjnego.

Sprawozdanie z badań laboratoryjnych jest ważnym dokumentem – na jego podstawie lekarz podejmuje decyzję o zastosowaniu takiej czy innej terapii. Ponieważ chodzi o tak istotną rzecz, jak zdrowie lub życie pacjenta, sprawozdanie z badań laboratoryjnych powinno być czytelne, jednoznaczne – i zabezpieczone przed niekontrolowaną modyfikacją (integralne). Takie warunki spełnione są w przypadku tworzenia sprawozdań w formie dokumentów elektronicznych w formacie XML, podpisanych elektronicznie podpisem zaawansowanym lub kwalifikowanym.

Jeśli o same podpisy elektroniczne chodzi, mogą być one tworzone w różnych **typach i formatach** – przy wykorzystaniu tego samego oprogramowania do składania podpisu:

Na powyższym rysunku pokazano sposób ustawienia typu i formatu podpisu, którym podpisywane będą dokumenty.

Aplikacja wykorzystywana do składania podpisu powinna umożliwiać utrwalenie wybranych parametrów. Ważne jest jedynie, by była dostosowana się do standardów (KRI), o których już była mowa tak, by strona odbierająca dokument mogła łatwo zweryfikować podpis i – w razie potrzeby, na papierowym wydruku potwierdzić datę, godzinę, imię, nazwisko i stanowisko oraz identyfikator osoby, która opatrzyła dokument podpisem elektronicznym. Aktualnie w certyfikatach powszechnie stosuje się imię, nazwisko i PESEL, oraz informację o stanowisku lub roli, w jakiej w danej organizacji występuje podpisujący, lub w przypadku przedsiębiorców – NIP zamiast PESEL-u. W przekonaniu autora niniejszego nic nie stałoby na przeszkodzie, by zamiast PESEL-u w certyfikacie ujawniany był Numer Prawa Wykonywania Zawodu (NPWZ) – który jest dzisiaj sprawdzalny choćby na stronie CSIOZ, w Rejestrze Diagnostów Laboratoryjnych (<http://rdl.rejestrymedyczne.csioz.gov.pl/>). Ważne jest, by tożsamość podpisującego dało się jednoznacznie i łatwo ustalić. Występowanie numeru PESEL w certyfikatach kwalifikowanych stanowi dla wielu osób źródło dyskomfortu, co jest wprawdzie irracjonalne, ale jest faktem. Niestety, kwalifikowane centra certyfikacji wystawiając certyfikaty tworzą je na podstawie okazanego dowodu tożsamości, a ten NPWZ nie zawiera. Dzięki jednak referencjom i możliwościom tworzenia dokumentów wiarygodnych (np. dokument elektroniczny, wystawiony przez uprawnionego pracownika samorządu zawodowego, podpisany oczywiście podpisem kwalifikowanym, po- ➤





macie XML, a zapewnienie integralności i związek z podpisującym zrealizowany jest przez zastosowanie podpisu kwalifikowanego lub zaawansowanego (sprawozdanie z badań laboratoryjnych nie stanowi wyrażenia woli ani przyjęcia do wiadomości, lecz potwierdzenie stanu faktycznego).

Podsumowanie

Nie istnieją przeszkody prawne ani techniczne, by w najszerszym zakresie stosować podpis elektroniczny (kwalifikowany lub zaawansowany) w praktyce diagnostyki laboratoryjnej. Należy jedynie zadbać o upowszechnienie wiedzy o możliwości otrzymywania przez pacjentów wyników badań w postaci elektronicznej – i ta wiedza powinna być przekazywana przez osoby pobierające materiał do badań laboratoryjnych. Takie działanie poprawiłoby bezpieczeństwo danych oraz obniżyło koszty tworzenia i przekazywania wyników badań, oraz umożliwiłoby łatwe przekazywanie ich lekarzom, którym chciałby udostępnić je pacjent. Umożliwiłoby także łatwą archiwizację dokumentacji medycznej. ■

► twierdzącym przyporządkowanie konkretnego NPWZ do PESEL-u.

Należy zauważyć, że dokument elektroniczny posiada strukturę. Struktura ta umożliwia przechowywanie w dokumencie danych w odpowiednim kontekście. Sformalizowane dokumenty, tworzone na podstawie wzorów, poddają się łatwiejszej analizie, są łatwiej „przyswajalne”, tak-

że przez człowieka. **Wzory dokumentów elektronicznych** są składowane w tzw. repozytoriach wzorów dokumentów, w których mogą być wyszukiwane, przeglądane i w których są zabezpieczone przed niekontrolowanymi zmianami. Należy dążyć do sytuacji, w której **każdy** dokument posiada swój jednoznacznie określony wzór, służący do wygenerowania tego dokumentu w for-

Informator o uchwałach organów Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych

Informujemy, iż Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych, IV Kadencji, podjęło następujące uchwały:

Na III posiedzeniu w dniu 24 marca 2015 r.:

1. Uchwała Nr 9/1-P/IV/2015 do Nr 9/8-P/IV/2015 PKRDL w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
2. Uchwała Nr 10/1-P/IV/2015 do Nr 10/6-P/2015 PKRDL w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
3. Uchwała Nr 11/1-P/IV/2015 do Nr 11/56-P/IV/2015 PKRDL w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych;
4. Uchwała Nr 12/1-P/IV/2015 do Nr 12/2-P/IV/2015 PKRDL z dnia w sprawie udzielenia rekomendacji;
5. Uchwała Nr 13/P/IV/2015. w sprawie odmowy wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych.

Na IV posiedzeniu w dniu 16 kwietnia 2015 r.:

6. Uchwała Nr 14/1-P/IV/2015 do Nr 14/9-P/IV/2015 PKRDL w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;

7. Uchwała Nr 15/5-P/IV/2015 do Nr 15/5-P/IV/2015 PKRDL w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
8. Uchwała Nr 16/20-P/IV/2015 do Nr 16/20-P/IV/2015 PKRDL w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych;
9. Uchwała Nr 17/1-P/IV/2015 do Nr 17/3-P/IV/2015 PKRDL w przedmiocie udzielenia rekomendacji dla szkolenia podyplomowego w celu realizacji obowiązku doskonalenia zawodowego diagnostów laboratoryjnych.

Na V posiedzeniu w dniu 21 maja 2015 r.:

10. Uchwała Nr 18/1-P/IV/2015 do Nr 18/11-P/IV/2015 PKRDL w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
11. Uchwała Nr 19/1-P/IV/2015 do Nr 19/4-P/IV/2015 PKRDL w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
12. Uchwała Nr 20/1-P/IV/2015 do Nr 20/38-P/IV/2015 PKRDL w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Dia-

gnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych;

13. Uchwała Nr 21/1-P/IV/2015 do Nr 21/7-P/IV/2015 PKRDL w przedmiocie udzielenia rekomendacji dla szkolenia podyplomowego w celu realizacji obowiązku doskonalenia zawodowego diagnostów laboratoryjnych.

Na VI posiedzeniu w dniu 17 czerwca 2015 r.

14. Uchwała Nr 22/1-P/IV/2015 do Nr 22/17-P/IV/2015 PKRDL w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;

15. Uchwała Nr 23/1-P/IV/2015 do Nr 23/5-P/IV/2015 PKRDL w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;

16. Uchwała Nr 24/1-P/IV/2015 do Nr 24/30-P/IV/2015 PKRDL: w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych;

17. Uchwała Nr 25/P/IV/2015 w sprawie decyzji w przedmiocie dalszych działań dotyczących egzekucji zaległych składek członkowskich.

Informujemy, iż Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych, IV Kadencji, na II posiedzeniu w dniu 17 kwietnia 2015 r. podjęła następujące uchwały:

1. Uchwała Nr 11/IV/2015 KRDL w sprawie uchylenia Uchwały Nr 68/2005 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 25 lutego 2005 roku w sprawie regulaminu Rzecznika Dyscyplinarnego i regulaminu Sądów Dyscyplinarnych;
2. Uchwała Nr 12/IV/2015 KRDL w sprawie Regulaminu wewnętrznego Sądu Dyscyplinarnego i Wyższego Sądu Dyscyplinarnego;
3. Uchwała Nr 13/IV/2015 KRDL w sprawie Regulaminu postępowania i organizacji Zespołu Rzecznika Dyscyplinarnego;
4. Uchwała Nr 14/IV/2015 KRDL w sprawie ustalenia podziału czynności między członków Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych;
5. Uchwała Nr 15/IV/2015 KRDL w sprawie wynagradzania z tytułu pełnienia funkcji z wyboru w Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych;
6. Uchwała Nr 16/IV/2015 KRDL w sprawie określenia sposobu doskonalenia zawodowego diagnostów laboratoryjnych;
7. Uchwała Nr 17/IV/2015 KRDL w sprawie przyjęcia Regulaminu uzyskiwania rekomendacji dla szkolenia podyplomowego w celu realizacji obowiązku doskonalenia zawodowego diagnostów laboratoryjnych;
8. Uchwała Nr 18/IV/2015 KRDL w sprawie przeszkolenia diagnosty laboratoryjnego w związku z przerwą w wykonywaniu zawodu trwającą powyżej 5-ciu lat;
9. Uchwała Nr 19/IV/2015 KRDL w sprawie Regulaminu przyznawania rodzinie zmarłego diagnosty laboratoryjnego pomocy materialnej;
10. Uchwała Nr 20/IV/2015 KRDL w sprawie przyjęcia planu wizytacji na rok 2015;
11. Uchwała Nr 21/IV/2015 KRDL w sprawie powołania Członka Zespołu Wizytatorów KRDL;
12. Uchwała Nr 22/IV/2015 KRDL w sprawie przyjęcia sprawozdania finansowego Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych za rok obrachunkowy 2014;
13. Uchwała Nr 23/IV/2015 KRDL w sprawie zmiany załącznika Uchwały Nr 3/IV/2015 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 9 stycznia 2015 roku w sprawie przyjęcia planu dochodów i wydatków Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych na rok 2015;
14. Uchwała Nr 24/IV/2015 KRDL w sprawie akceptacji treści porozumienia z zakładem pracy zatrudniającym diagnostę laboratoryjnego, który wykonując zadania ustalone ustawą o diagnostyce laboratoryjnej występuje do zakładu pracy o wyrażenie zgody na zwolnienie na ten czas od pracy i ustalenie zasad wynagrodzenia za ten czas;
15. Uchwała Nr 25/IV/2015 KRDL w sprawie zmiany Uchwały Nr 104/III/2013 KRDL z dnia 27 czerwca 2013 roku w sprawie refundowania kosztów związanych z zadaniami członków organów Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych, a także innych osób zaproszonych lub wykonujących czynności zlecone przez organy Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych;
16. Uchwała Nr 26/IV/2015 KRDL w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych;
17. Uchwała Nr 27/IV/2015 KRDL w sprawie windykacji zaległych składek;
18. Uchwała Nr 28/IV/2015 KRDL w sprawie powołania Komisji etyki;
19. Uchwała Nr 29/IV/2015 KRDL w sprawie przyznawania nagród pieniężnych dla najlepszych absolwentów kierunku analiza medyczna lub medycyna laboratoryjna oraz innych nagród;
20. Uchwała Nr 30/IV/2015 KRDL w sprawie zatwierdzenia decyzji Komisji Nagród i Odznaczeń Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych o przyznaniu odznaczenia „Zasłużony Diagnosta Laboratoryjny”, „Zasłużony dla medycznej diagnostyki laboratoryjnej”, oraz nagrody - „Dyplom za wzorową pracę”;
21. Uchwała Nr 31/IV/2015 KRDL w sprawie uznania kwalifikacji do wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego.

**Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych informuje,
iż przesyła diagnostom żądane przez nich uchwały w formie papierowej,
na wniosek złożony w formie pisemnej na adres:
Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych, ul. Konopacka 4, 03-428 Warszawa
lub na adres e-mail: biuro@kidl.org.pl**



Aleksandra Łuszczyńska

(15.03.1943-10.04.2015)

10 kwietnia 2015 po 5,5 latach przebywania w stanie śpiączki, zmarła wieloletnia kierownik Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej w Wojewódzkim Szpitalu Zespolonym w Płocku, poseł na Sejm IV Kadencji – człowiek wrażliwy na potrzeby drugiej osoby, magister farmacji.

Urodziła się 15 marca 1943 r. w Mogielnicy w powiecie grójeckim. Jej rodzice mieszkali i pracowali w Zakładzie Wychowawczym Jurki organizując, w trudnym okresie powojennym, dom i szkołę dla niepełnosprawnych sierot. Ojciec pełnił funkcję dyrektora Domu Dziecka, a matka kierownika Szkoły Specjalnej. Dzięki rodzicom, mgr Łuszczyńska wyniosła z domu ogromną wrażliwość społeczną i niezwykle zdolności organizacyjne, które cechowały Jej całe dorosłe życie.

Liceum ogólnokształcące ukończyła w Grójcu, w 1960 r. rozpoczęła studia na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Warszawie, które ukończyła w 1966 r. jako pierwszym w kraju rocznik absolwentów farmacji specjalność analityka kliniczna na Wydziale Farmaceutycznym. Razem z mgr Łuszczewską studiowali m. in. prof. Marek Jagielski i dr Wiesław Tadeusiak.

Po studiach początkowo pracowała jako kierownik Laboratorium, a następnie jako kierownik Działu Diagnostycznego w Przychodni Rejonowej w Grójcu.

W 1974 r. uzyskała specjalizację I stopnia w zakresie analityki klinicznej i w tym samym roku wraz z mężem Tadeuszem Łuszczyńskim, który był w tym czasie konsultantem wojewódzkim w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej województwa warszawskiego, przeprowadziła się do Płocka.

Mąż mgr Łuszczyńskiej - dr Tadeusz Łuszczyński był wybitną postacią ówczesnego świata diagnostyki laboratoryjnej. W czasie studiów jako niezwykle uzdolniony student stał się współpracownikiem Profesora Ludwika Hirszfelda w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu.

Małżeństwo Łuszczyńskich organizowało Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej w nowo budowanym Szpitalu w Płocku, obecnie zwanym Wojewódzkim Szpitalem Zespolonym w Płocku. O randze laboratorium świadczy fakt, że do Płocka trafił pierwszy w Polsce automatyczny anali-

zator biochemiczny. Doktor Łuszczyński został wówczas kierownikiem Zakładu, a mgr Łuszczyńska rozpoczęła intensywne szkolenia i w 1976 r. uzyskała tytuł specjalisty w dziedzinie analityki klinicznej. Szkoliła się w szczególności w hematologii, pełniła funkcję kierownika Pracowni Hematologicznej. Miała wybitną umiejętność w zakresie oceny cytomorfologicznej szpiku kostnego.

Swoją wiedzę przekazywała jako nauczyciel hematologii w Medycznym Studium Zawodowym kształcącym techników analityki, gdzie poziom merytoryczny hematologii w szkole w tamtym czasie należał do najwyższych w kraju.

Po nagłej śmierci doktora Łuszczyńskiego na dyżurze w szpitalu w 1980 r., została powołana na stanowisko kierownika Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej. Kierowała Zakładem do jesieni 2001 r.

Magister Łuszczyńska była bardzo zdolnym diagnostą laboratoryjnym. Wielu pacjentów Szpitala zawdzięcza jej szybkie i trafne diagnozy. W okresie pracy w Szpitalu Wojewódzkim w Płocku jej umiejętności zawodowe i, zdecydowanie ponadprzeciętne, zdolności organizacyjne powodowały, że Zakład, który prowadziła, był zawsze na najwyższym poziomie. Nigdy nie racjonowała wiedzy – z satysfakcją konsultowała wszystko, co było trudne dla kolegów z okolicy. Była wielką pasjonatką naszej pracy. Zachwycała uczniów i młodych pracowników swoją pasją dla zawodu. Miała otwarty umysł, chłonęła nowe informacje.

Była znakomitym szefem na co dzień, a także bardzo miło było z nią świętować. Czasem zaskakiwała nas okolicznościami własnymi wierszykami napisanymi z humorem i swadą.

Jesienią 2001 r. została wybrana na posła na Sejm IV Kadencji z listy SLD.

W Sejmie pracowała w Komisji Zdrowia i Komisji Spraw Społecznych. Zasłużyła się dla diagnostów wielkim wsparciem w Ministerstwie Zdrowia w okresie „przecierania się” obowiązującej już Ustawy o Diagnosty-

ce Laboratoryjnej przez kręgi przeciwników. Włożyła wiele starań by zmotywować Ministerstwo Zdrowia do powołania Komitetu Organizacyjnego I Krajowego Zjazdu Diagnostów Laboratoryjnych.

Przez całe życie pracowała społecznie. Była związkowcem, przewodniczącą Związków Zawodowych Pracowników Ochrony Zdrowia w Szpitalu, a w latach 90. ubiegłego wieku – członkiem Rady Krajowej Federacji Związków Zawodowych Pracowników Ochrony Zdrowia.

Za swoją pracę i swoje zasługi dla społeczności Płocka była odznaczona wieloma odznaczeniami z Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski włącznie.

Zawsze miała wielu przyjaciół. Kochała grać w brydża. Kochała dalekie podróże, zwiedzanie nowych miejsc, fascynowało ją głównie poznawanie nowych ludzi.

Po zakończeniu pracy zawodowej była nadal bardzo aktywną osobą. Miała wiele planów spotkań i wiele zakreślonych na mapie miejsc do zwiedzenia. Zawsze trywała energią.

Naszym zdaniem Szefową pięknie charakteryzuje sen jej przyjaciółki. Kiedy zachorowała i wiadomo było, że nie będzie można z nią porozmawiać, że samodzielnie nie wykona już żadnego ruchu, przyjaciółce przysniła się jak mówi: „wiesz, będę musiała nauczyć się tak żyć”.

Z wielką godnością na oddziale apalicznym przeżyła 5 i pół roku otoczona codzienną opieką kochającej córki Katarzyny. Takiej opieki, jaką dostała Aleksandra Łuszczyńska, przez lata pozostająca w śpiączce, ze strony personelu hospicjum i Córki, nie da się podsumować zwykłymi słowami. Należy tylko zamyślić się nad refleksją, że bardzo na nią zasłużyła.

Non omnis moriar

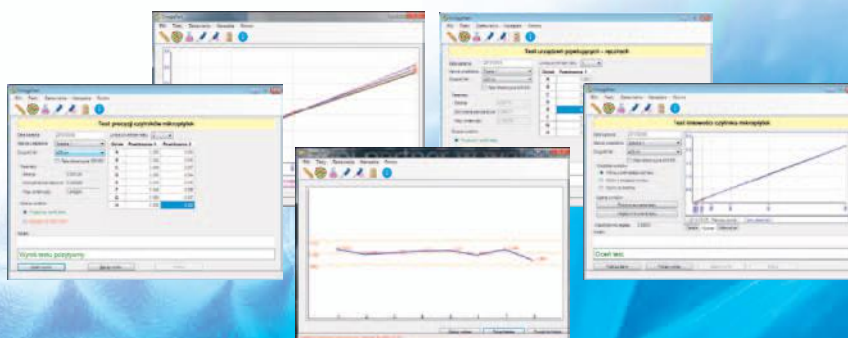
*Zespół diagnostów laboratoryjnych
w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej
w Wojewódzkim Szpitalu Zespolonym
w Płocku.*

Pathozyme[®] ElisaSure

Nowy wymiar kontroli w laboratorium

Pathozyme[®] ElisaSure pozwala na ocenę:

- liniowości i precyzji czytnika mikroplatek
- wydajności płuczki (płukania)
- precyzji pipet (ręcznych i automatycznych)



www.omegadiagnostics.pl



Zmień swoją kontrolę, nie wyniki

Uniwersalność materiału kontrolnego jest niezbędna do zabezpieczenia jakości wyników w twoim laboratorium. Jako profesjonalny diagnosta wiesz, że zmiana w wynikach kontroli jakości nie zawsze jest odzwierciedlona w wynikach pacjentów. I odwrotnie - zmiana wyników próbek pacjentów nie zawsze jest widoczna w zmianie wyników kontroli jakości. Aby skutecznie zweryfikować nowe serie odczynników i zidentyfikować błędy w układzie pomiarowym, ważne jest, żeby próbki kontroli jakości zachowywały się jak próbki pacjenta.

Randox jest jedyną firmą która produkuje materiały kontrolne do immunochemii stosując wyłącznie komponenty ludzkie. Zatem jest to jedyna w **100% ludzka kontrola** na rynku. Gwarantuje to uniwersalność kontroli która reaguje jak próbki pacjentów zapewniając, że otrzymujesz **dokładne** wyniki którym możesz **ufać**.



RANDOX
QUALITY CONTROL

Randox Laboratories Polska Sp. z o.o.

☎ +48 (0) 22 862 1080

☎ +48 (0) 22 862 1081

✉ marketing@randox.com

🌐 randoxqc.com