

# DIAGNOSTA

## laboratoryjny

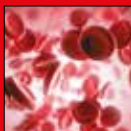
Rok XIX nr 3 (64) listopad 2021



BEZPŁATNA GAZETA KRAJOWEJ IZBY DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH

ISSN 2084-1663

## PROTEST PRACOWNIKÓW OCHRONY ZDROWIA



NIEDOKRWIŚCI  
AUTOIMMUNO-  
HEMOLITYCZNE



OSOCZE KRWI OZDROWIEŃCÓW  
JAKO POTENCJALNA TERAPIA  
U CHORYCH NA COVID-19



COVID  
KOMPENDIUM

OKIEM PRAWNIKA

→ MNIEJ LICZNI NIE ZNACZY MNIEJ WAŻNI



25-26  
LISTOPADA  
**2021**  
ON LINE

# 5

## OGÓLNOPOLSKIE FORUM KIEROWNIKÓW MEDYCZNYCH LABORATORIÓW DIAGNOSTYCZNYCH

MEDYCYNA LABORATORYJNA  
- TERAŻNIEJSZOŚĆ I PRZYSZŁOŚĆ.  
XX-LECIE USTAWY  
O DIAGNOSTYCE LABORATORYJNEJ

[5forumkierownikowdlm.pl](http://5forumkierownikowdlm.pl)

### Patronaty



### Partnerzy



### Patronat medialny



Najważniejsze wydarzenie  
dla diagnostów laboratoryjnych  
w 2021 roku

**D**ruga połowa roku upływa nam pod znakiem protestu pracowników ochrony zdrowia, a w tle mamy czwartą falę dynamicznego wzrostu zakażeń koronawirusem. Zawiązany 3 sierpnia Ogólnopolski Komitet Protestacyjno-Strajkowy Ochrony Zdrowia, w skład którego wchodzi przedstawiciele samorządów zawodów medycznych NIL, NIPiP, KIF i KIDL oraz przedstawiciele związków zawodowych – tym reprezentujący diagnostów Ogólnopolski Związek Zawodowy Pracowników Diagnostyki Medycznej i Fizjoterapii od początku wskazuje obszary nieprawidłowego funkcjonowania publicznej ochrony zdrowia, w tym nieadekwatne wynagrodzenia wynikające z ustawy o minimalnym wynagrodzeniu i brak perspektywy ich wzrostu, ale także inne zaniechania, co prowadzi do deficytu kadr i złego funkcjonowania systemu. Ministerstwo Zdrowia otrzymało nasze postulaty 9 września. Są to najistotniejsze problemy nękające medyków a dotyczące całego systemu publicznej ochrony zdrowia.

Oto one:

1. Natychmiastowa zmiana ustawy o zmianie ustawy o sposobie ustalania najniższego wynagrodzenia zasadniczego niektórych pracowników zatrudnionych w podmiotach leczniczych.
2. Realny wzrost wyceny świadczeń medycznych oraz ryczałtów o 30% oraz dobokaretki w systemie PRM o 80% od 1 października 2021 roku oraz zobowiązanie AOTMiT do przeprowadzenia ponownej wyceny wszystkich świadczeń do 30 listopada 2022 roku.
3. Zatrudnienie dodatkowych pracowników obsługi administracyjnej i personelu pomocniczego oraz wprowadzenie norm zatrudnienia uzależnionych od liczby pacjentów.
4. Zapewnienie zawodom medycznym statusu funkcjonariusza publicznego i stworzenie systemu ochrony pracowników przed agresją słowną i fizyczną pacjentów.



5. Stworzenie na warunkach chroniących medyków i pacjentów odpowiedniego systemu rejestrowania zdarzeń medycznych niepożądanych (*no-fault*).
6. Rezygnacja z tworzenia nowych zawodów medycznych przy jednoczesnym efektywniejszym wykorzystaniu obecnych zawodów medycznych przez stworzenie im możliwości kształcenia podyplomowego i specjalizacyjnego rozszerzających ich kompetencje.
7. Wprowadzenie urlopów zdrowotnych po 15 latach pracy zawodowej
8. Uchwalenie ustaw: o medycynie laboratoryjnej, zawodzie ratownika medycznego oraz innych zawodach medycznych.





Fot. DDF Studio

Niestety, porozumienia w kwestii realizacji postulatów do dzisiaj nie mamy. Mamy protest, funkcjonuje Białe Miasteczko, 11 września odbył się ogólnopolski marsz protestacyjny ulicami Warszawy. Kluczowy dla naszego środowiska punkt ósmy postulatów dalej na etapie obietnic. Podczas negocjacji ze stroną ministerialną Komitet otrzymał na początku października do wglądu projekt ustawy o medycynie laboratoryjnej. Był on akceptowalny, zgodny z uwagami wypracowanymi i podjętymi w drodze uchwał przez Krajową Radę Diagnostów Laboratoryjnych, wysłanymi do MZ w trakcie konsultacji społecznych projektu ustawy na początku września 2020 r. Kluczowe punkty, jak finansowanie specjalizacji, płatne urlopy szkoleniowe, dostęp do zawodu, prowadzenie praktyk zawodowych przez diagnostów (praca na kontraktach), dofinansowanie samorządu ze środków publicznych znalazły się w projekcie, który miał trafić na komitet stały Rady Ministrów 7 października. Do teraz tam nie trafił. Dlaczego? Komitet Protestacyjny pracuje i nadal wszystkie postulaty są aktualne.

Dla dobra i bezpieczeństwa pacjentów apelujemy do rządzących i parlamentarzystów – wysłuchajcie naszych postulatów! Jesteśmy zmęczeni, przepracowani a COVID-19 nam nie pomaga.

Dużym wyzwaniem dla naszego samorządu jest organizowane właśnie w dniach 25–26 listopada V Forum Kierowników Medycznych Laboratoriów Diagnostycznych, na które wszystkich diagnostów serdecznie zapraszam. Podczas gali zostaną wręczone diagnostom odznaczenia MZ m.in. za walkę z pandemią. Odbędzie się też panel dyskusyjny prezesów samorządów zawodów medycznych z wiceministrem zdrowia „Zdrowie – wspólna sprawa”. Czekam na Państwa szereg merytorycznych wykładów wygłoszonych przez ekspertów w poszczególnych dziedzinach. Można też uzyskać punkty twarde po zaliczonym teście.

Jeszcze raz zapraszam Państwa do udziału w Forum.



Trwają zapisy rejestracyjne na ostatnie szkolenia z kwalifikacji i wykonywania szczepień przeciw COVID-19 organizowane przez CMKP na zamówienie ministerstwa zdrowia. Jest to o tyle ważne, że kompetencje mogą zostać poszerzone o szczepienia przeciw grypie, o które legislacyjnie wnioskowała KIDL – ostatnie głosowanie w sejmie przed nami. MZ zapewnia o pełnym poparciu. W przyszłości być może dołączy szczepienia przeciw HPV. Jednak najpilniejszą sprawą dla samorządu jest uchwalenie ustawy o medycynie laboratoryjnej oraz podpisanie porozumienia z OKPS i wypracowanie takich mechanizmów aby system publicznej ochrony zdrowia nie złożył się jak domino.

Alina Niewiadomska  
Prezes Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych



Fot. DDF Studio

Drodzy Czytelnicy,

trwa protest pracowników ochrony zdrowia, zapoczątkowany 11 września br. przemarszem przedstawicieli wszystkich zawodów medycznych pod Kancelarię Premiera Rady Ministrów i założeniem Białego Miasteczka 2.0. KIDL, uczestnicząc w Komitecie Protestacyjno-Strajkowym Pracowników Ochrony Zdrowia, aktywnie wspiera jego działania. Przebieg protestu i to, w jaki sposób uczestniczą w nim Diagnostyci Laboratoryjni, na łamach tego numeru opisuje wiceprzewodnicząca OZZPDMiF Dorota Kowalczyk-Cyran. Zapraszam również do lektury artykułów merytorycznych m.in. podsumowania informacji na temat diagnostyki molekularnej SARS-CoV-2, a tych z Państwa, których tematy związane z pandemią przyprawiają o zawrót głowy – do pozostałych artykułów dotyczących niedokrwistości autoimmunohemolitycznych czy epidemiologii, patogenazy i diagnostyki raka żołądka.

Na zakończenie chciałbym zachęcić Państwa do uczestnictwa w 5. Ogólnopolskim Forum Kierowników Medycznych Laboratoriów Diagnostycznych, które odbędzie się w dniach 25–26 listopada br.

Życzę miłej lektury

Maciej Janiak

Redaktor naczelny „Diagnosty laboratoryjnego”



## Pracodawcy Pomorza dziękują diagnostom laboratoryjnym

Pracodawcy Pomorza podziękowali medykom z Pomorza – w tym diagnostom laboratoryjnym.

W trakcie jubileuszowej gali Pracodawców Pomorza „Przedsiębiorcy Medykom” skarbnik KRDL i przedstawiciel KRDL dla województwa pomorskiego Alicja Utracka odebrała z rąk byłego prezydenta Lecha Wałęsy Nagrodę – Statuetkę **Cum Graria Magna** (Z Wielką Wdzięcznością) przyznaną diagnostom laboratoryjnym z Pomorza w podziękowaniu za wielki wkład w walce z COVID-19.



Fot. Anna Bobrowska



# DIAGNOSTA

## laboratoryjny

W NUMERZE:



### SŁOWO PREZESA

- 3 Alina Niewiadomska

### AKTUALNOŚCI

- 8 PROTEST PRACOWNIKÓW OCHRONY ZDROWIA

- 10 Powiedzieliśmy: NIE!

*Kilkadziesiąt tysięcy osób wszystkich profesji medycznych i niemedycznych wyraziło sprzeciw wobec bylejakości w publicznej ochronie zdrowia.*

- 12 Standardy organizacyjne oraz akredytacyjne w patomorfologii

*Za nami pierwsze ze szkoleń z zakresu standardów organizacyjnych oraz akredytacyjnych w patomorfologii stanowiące kolejny etap realizacji projektu „Wsparcie procesu poprawy jakości w patomorfologii poprzez wdrożenie standardów akredytacyjnych oraz wzmocnienie kompetencji kadry zarządzającej podmiotami leczniczymi współfinansowanego ze środków europejskich w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014–2020”.*

### DIAGNOSTYKA

#### Niedokrwistości autoimmunohemolityczne

- 14 Gabriela Jop, Ewelina Krowicka, Katarzyna Pacyna

*Niedokrwistości autoimmunohemolityczne (NAIH) są stosunkowo rzadko wykrywanymi chorobami. Są one wywołane zaburzeniami w układzie odpornościowym, kiedy organizm produkuje przeciwciała skierowane do własnych erytrocytów.*

#### Koagulopatia związana z COVID-19

- 18 Emilia Wojciechowska

*W grudniu 2019 roku w kilku ośrodkach zdrowia w Wuhan w Chinach, odnotowano przypadki zachorowań na zapalenie płuc o niejasnej etiologii. Wkrótce infekcja rozprzestrzeniła się globalnie. 11 marca 2020 roku Światowa Organizacja Zdrowia ogłosiła pandemię wirusa.*



- 21 Osocze krwi ozdowieńców jako potencjalna terapia u chorych na COVID-19

Beata Wiśniewska

*Analiza danych uzyskanych w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Warszawie.*

- 24 Epidemiologia, patogeneza oraz diagnostyka raka żołądka

mgr Sylwia Nakonieczna, mgr Marta Michałkiewicz, mgr Monika Bożemska

*Z raportu Światowej Organizacji Zdrowia WHO wynika, że w 2018 roku 9,6 mln osób zmarło z powodu chorób nowotworowych. Rak żołądka jest jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych u ludzi. Światowa Organizacja Zdrowia WHO podaje, że w 2018 roku był on piątym nowotworem, na który najczęściej chorowano i jednocześnie stanowił trzecią przyczynę zgonów z powodu chorób nowotworowych.*

- 27 COVID kompendium

mgr Paulina Golińska, mgr Mateusz Sztuka, mgr Joanna Kasperska, mgr Olga Wojtysiak, dr n. farm. Adrian Krygier, mgr Angelika Kasprzak, mgr Izabela Kmiecik, prof. dr hab. n. farm. Ewa Balcerczak

*Pod koniec grudnia 2019 roku w mieście Wuhan w Chinach pojawiły się pierwsze doniesienia o rosnącej liczbie przypadków zapalenia płuc o nieznannej etiologii. Ze względu na drastyczny przyrost zakażeń rozpoczęto niezwłocznie prace nad identyfikacją czynnika etiologicznego. Wirus, który otrzymał w tamtym czasie nazwę 2019-nCoV został w styczniu 2020 roku oficjalnie uznany za odpowiedzialny za wybuch epidemii.*

### OKIEM PRAWNIKA

- 34 Mniej liczni nie znaczą mniej ważni

adw. Grzegorz Zygmunt Hellich

*Wystąpienie globalnej pandemii koronawirusa doprowadziło do szeregu zmian i przeobrażeń w każdej z dziedzin naszego życia. Pierwsza linia tych zmian dotyczyła w szczególności sposobu organizacji systemu udzielania świadczeń zdrowotnych oraz zapewnienia odpowiedniego bezpieczeństwa zdrowotnego. Wymagało to szybkiej adaptacji do nowej rzeczywistości, celem zabezpieczenia populacji.*

### INFORMATOR DIAGNOSTY

- 36 Informator o uchwałach organów Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych

#### Wydawca:

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

#### Redakcja:

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

## PROTEST PRACOWNIKÓW OCHRONY ZDROWIA







Fot. DDF Studio



● Dorota Kowalczyk-Cyran  
diagnosta laboratoryjny



# POWIEDZIELIŚMY: NIE!

Kilkadziesiąt tysięcy osób wszystkich profesji medycznych i niemedycznych wyraziło sprzeciw wobec bylejałości w publicznej ochronie zdrowia. O tym dlaczego medycy protestują pisze Dorota Kowalczyk-Cyran, diagnosta laboratoryjny, wiceprzewodnicząca Ogólnopolskiego Związku Zawodowego Pracowników Diagnostyki Medycznej i Fizjoterapii. Związek ten zrzesza medyków, wraz z KIDL należy do Komitetu Protestacyjno-Strajkowego Pracowników Ochrony Zdrowia.

## Powiedzieliśmy NIE dla pracy w kilku miejscach

**NIE** za zrzucanie winy na Nas – medyków, za kolejki do lekarzy, brak dostępu do specjalistów, limitowania badań diagnostycznych i reglamentowania fizjoterapii.

Zażądaliśmy wzięcia odpowiedzialności za politykę zdrowotną przez ludzi, którzy w mediach z troską w głosie, epatują wyświechtanymi frazesami jak im leży na sercu dobro polskiego pacjenta. Stworzyliśmy platformę do spotkań w Białym Miasteczku 2.0. Pierwsze pięć dni akcji był pozytywnym, konstruktywnym czasem zrealizowanych cykli spotkań edukacyjnych. Rozmów z pacjentami i o pacjentach, jakie oni mają oczekiwania i pomysły na sprawnie działający system opieki zdrowotnej. W czwartek 16.09.2021 w dniu poświęconym onkologii i hematologii dopełnieniem wykładu prof. Cezarego Szczylika były warsztaty hematologiczne. Wypożyczyliśmy mikroskop i telebim, na którym można było obserwować prezentowane przypadki chorób hematologicznych, wzbudziły one ogromne zainteresowanie warszawiaków i medyków obecnych w Miasteczku.

18.09.2021 został ujęty w agendzie BIAŁEGO MIASTECZKA 2.0 jako dzień profilaktyki zdrowotnej, propagowania roli zawodów medycznych, które na co dzień są mniej widoczne w systemie ochrony zdrowia. Mieliśmy niepowtarzalną szansę przedstawienia Naszej roli i podkreślenia niedocenionej pracy na rzecz pacjentów. Dzięki grupie pasjonatów i pozytywnie zakręconych ludzi udało się zaprosić autorytety w diagnostyce laboratoryjnej: prof. J. Antoniewicz-Papis, prof. J. Windygę, dr. n. med. E. Odnoczek, dr. hab. n. med. O. Ciepiałę, dr B. Tymoniuka, dr. n. med M. Kłudkowską, blogerkę i specjalistkę serologii transfuzjologicznej – A. Kowalską.

Licznie stawili się studenci analityki medycznej, których zmobiliowała Aleksandra Kumorek.

Część poświęconą fizjoterapii przygotowało grono specjalistów: P. Rumińska-Radziwoń (rehabilitacja dziecięca), Z. Wroński i P. Brdak (rehabilitacja dorosłych).

Diagnostykę obrazową w przystępnym ujęciu przygotowali T. Gregorczyk, E. Dziurda-Józefowska, A. Opala i C. Staroń. Nasz dzień kończyła sesja z dietetyczką K. Błażejewską-Sthur. Zaproponowaliśmy pacjentom możliwość wykonania morfologii i testów anty HCV, zarówno kasetkowych jak i ilościowych. Nieodzowna okazała się pomoc ze strony ALAB laboratoria i I. Surożyńskiej-Godziny oraz E. Szymaniak. Z ramienia firmy koordynowały mobilny punkt pobrań, transport próbek do laboratorium przy ul. Stępińskiej, w którym bezpłatnie były wykonywane morfologie



5-DIFF oraz HCV. Otrzymaliśmy pomoc w postaci dwóch par pobierających, testy kasetkowe HCV oraz mnóstwo gadżetów dla dzielnych pacjentów.

A. Wrona, M. Murach oraz management Sysmex Polska Sp. z o.o. wykazały zaufanie dla organizatorów i wstawiły do Białego Miasteczka 2.0 analizator hematologiczny, aby na miejscu wykonywać morfologię. Nad zachowaniem standardów jakości czuwały techniki analityki medycznej A. Witkowska z diagnostami: I. Baj, K. Cieślak i K. Muszyńska. Tych osób, które poświęciły swój czas było znacznie więcej – bardzo wszystkim dziękuję za zaangażowanie.

Dzień Innych Zawodów Medycznych, możemy oczywiście obrażać się na to sformułowanie, ale tak NAS widzi Ministerstwo Zdrowia i rząd w ustawie o najniższym wynagrodzeniu, został odwołany.

Odwołany z powodu samobójstwa pana, który wcześniej przychodził do nas. Rozmawiał, skarżył się na niemożność dostania się do onkologa, ale jako wyraz sympatii przyniósł czekoladki.

Szok, niedowierzenie i tak po ludzku współczucie dla rodziny, która straciła męża, ojca, dziadka. W tym tragicznym dniu medycy



w Białym Miasteczku zostali po raz kolejny zostawieni sami sobie. Cudowni rezydenci zorganizowali psychologów i otoczyli opieką naocznych świadków.

Trwanie Białego Miasteczka 2.0 stało pod znakiem zapytania. Zapadła decyzja o przejściu w „cichy dyżur”. Na stanowiskach, na 24-godzinny dyżurze pozostali lekarze rezydenci, pielęgniarki i ratownicy. Tak – NAS diagnostów tam nie było. W ciągu dnia, owszem, ale po zmierzchu... Nie sądzę, że kierował nami strach, bo przecież zostajemy sami w laboratorium.

Pragmatyzm i podział środowiska diagnostów laboratoryjnych, którzy nie wiedzieć czemu uważają, że im się po prostu należy: szacunek, ustawa o medycynie laboratoryjnej i wyższe apanaże, co najmniej na poziomie lekarskim. Otóż oznajmiam, że jeżeli sami nie zadamy o swoje sprawy to żadne pogaduchy i sweet focie w Ministerstwie Zdrowia nic nie dadzą.

Białe Miasteczko 2.0 po tygodniowym przestoju znów działało, a pacjenci oczekują od nas, że nie poddamy się!

1.10 i 3.10 diagności, którym leży na sercu byśmy przestali być niewidoczni, poprowadzili warsztaty z hematologii, serologii, transfuzjologii. W ruch poszły strzykawki i „motylki”. W tym miejscu pragnę gorąco podziękować firmie Sarstedt. Dostaliśmy próbówki i sprzęt jednorazowego użytku. Pobieraliśmy morfologię, ocenialiśmy rozmazy krwi obwodowej, określiliśmy grupę krwi i HCV.

Znaleźliśmy dwóch dawców rzadkiej grupy krwi oraz 4 osoby, które skierowaliśmy do dalszej diagnostyki hematologicznej. Na 200 wykonanych testów HCV dwóch pacjentów zostało skierowanych do specjalistów zajmującymi się chorobami zakaźnymi.

Pomagały nam koleżanki pielęgniarki, które mogą pochwalić się zdiagnozowaniem paru pacjentów z podwyższoną glikemią i jednego pacjenta z tak wysokim ciśnieniem tętniczym, że została udzielona mu natychmiastowa pomoc.

Spotkania z wiceministrem Piotrem Bromberem zakończyły się nieporozumieniem. Propozycja, która została nam zaofiarowana zawierała takie sformułowania jak: niezwłocznie, dokona wszelkich starań i *creme de la creme* po akceptacji Komisji Trójstronnej,

która już się popisała przyjęciem ustawy w takim kształcie jaki obowiązuje. W mediach wybrzmiały kwoty podane przez Piotra Brombera typu 1275 zł dla lekarza ze specjalizacją, ale od lipca 2022 r. i zawarta jest w tej kwocie już zaplanowana podwyżka z obowiązującej ustawy. Zmierając do brzegu realnie jest to niecałe 700 brutto dla lekarza specjalisty. Kolejny haczyk to propozycja na 2023 – z jeszcze bardziej żenującymi podwyżkami. Brak wyceń świadczeń, brak urlopu dla poratowania zdrowia, brak ustawy *no fault*.

Lekarze i pielęgniarki od 29 dni służą poradą, pomocą i po prostu są. A gdzie reszta medyków?

Apeluję, by nie zaprzepaścić tej jedności w imię jakiś interesów, ambicji, niechęci. Ilu z nas było z rezydentami? Oni poszli dalej, a my dalej tkwimy w tym samym miejscu.

Na koniec składam podziękowanie dla wszystkich diagnostów laboratoryjnych, techników radiologii i fizjoterapeutów, którzy widzą cel naszych działań i deklarują, a wiem, że nie są to puste słowa, swoją dyspozycyjność. Zapraszam również wszystkich diagnostów do Białego Miasteczka – nic się samo nie robi, nikt nie zadba o nasze interesy, jeżeli my tego nie zrobimy. ●



# STANDARDY ORGANIZACYJNE ORAZ AKREDYTACYJNE W PATOMORFOLOGII

**Z**a nami pierwsze ze szkoleń z zakresu standardów organizacyjnych oraz akredytacyjnych w patomorfologii stanowiące kolejny etap realizacji projektu Wsparcie procesu poprawy jakości w patomorfologii poprzez wdrożenie standardów akredytacyjnych oraz wzmocnienie kompetencji kadry zarządzającej podmiotami leczniczymi współfinansowanego ze środków europejskich w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014–2020.

Głównym celem działań podjętych przez Ministerstwo Zdrowia jest podniesienie jakości badań patomorfologicznych w podmiotach leczniczych, poprzez m.in. zwiększenie wiedzy w zakresie prawidłowego wykonywania badań patomorfologicznych i umiejętności kadry zarządzającej w zakresie zarządzania jakością i bezpieczeństwem pacjenta, a także wdrożenie dobrych praktyk organizacyjnych w postaci standardów postępowania w zakresie patomorfologii.

W ramach ww. projektu zostały opracowane zestawy standardów organizacyjnych oraz postępowania w diagnostyce patomorfolo-

gicznej – *Wytyczne dla zakładów/pracowni patomorfologii oraz standardy akredytacyjne dla jednostek diagnostyki patomorfologicznej* (JDP). Dokument ten został ogłoszony przez Ministra Zdrowia dn. 24 września br.

W ramach oceny organizacji badań patomorfologicznych została zwrócona między innymi uwaga na postępowanie z materiałem do badania od pobrania do momentu przekazania do zakładu patomorfologii, gdyż jest to kluczowy etap mający wpływ na możliwość wykonania tzw. badań dodatkowych (np. z zakresu technik biologii molekularnej). Zmiana jakościowa w patomorfologii nie dotyczy więc jedynie jednostek diagnostyki patomorfologicznej, ale szerokiego grona podmiotów realizujących oraz korzystających z badań patomorfologicznych.

Aktualnie odbywa się kolejny bardzo ważny etap realizacji ww. projektu polegający na szkoleniach z zakresu standardów organizacyjnych i akredytacyjnych w patomorfologii. Szkolenia adresowane są do pracowników podmiotów leczniczych realizujących świadczenia w zakresie patomorfologii oraz pracowników podmiotów leczniczych korzystających z badań patomorfologicznych. W dwóch pierwszych szkoleniach wzięło udział niemal 500 osób.

Do szkoleń można dołączyć 25, 29 października lub 3, 4, 8, 15, 24 listopada. Ostatnie spotkanie odbędzie się 1 grudnia.

Przedsięwzięcie uzyskało patronat honorowy Naczelnej Izby Lekarskiej, Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych, Naczelnej Rady Pielęgniarek i Położnych, Polskiego Towarzystwa Patologów, Polskiego Towarzystwa Onkologicznego, Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej oraz Polskiego Towarzystwa Nowotworów Głowy i Szyi, Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc oraz Fundacji Polska Liga Walki z Rakiem. ●

Więcej informacji o szkoleniach można znaleźć na stronie:

<https://standardywpatomorfologii.pl>



Fot. Rafał Nowak



**Total Thrombus-formation Analysis System**

Japoński system diagnostyczny T-TAS® umożliwia:

- identyfikowanie pacjentów wysokiego ryzyka zdarzeń niedokrwiennych lub krwotocznych;
- personalizację terapii przeciwplatekowej, przeciwzakrzepowej lub trombolitycznej;
- zmniejszenie toksyczności leków oraz unikanie ekstremalnych zmian w naturalnym bilansie hemostatycznym.

Tam gdzie klinicznie możliwy jest krwotok lub zakrzep:



Chirurgia



Procedury  
interwencyjne



Uraz



Centrum  
leczenia hemofilii



Farmakoterapia



Reakcja  
immunologiczna

...ważne jest aby wiedzieć, czy hemostaza pacjenta jest prawidłowa.

T-TAS® – całościowa i ilościowa analiza zdolności hemostazy w warunkach pół-fizjologicznych w przepływie krwi przez sztuczne naczynia krwionośne w mikroczipach.

Warunki reologiczne w sztucznych naczyniach naśladują typową sytuację w żylnych lub tętniczych naczyniach krwionośnych. Odzwierciedlają one interakcję pomiędzy płytkami krwi i fibryną.

Jedynе na rynku urządzenie dające globalną analizę hemostazy.

Wykrywa nawet niewielkie zmiany w układzie hemostazy.

Trzy niezależne mikroczipy w systemie T-TAS® do różnych zastosowań medycznych.

PL – terapie przeciwplatekowe, wrodzone zaburzenia płytkowe

AR – terapie przeciwzakrzepowe DOAC, warfaryna, heparyna, VKA, terapia przeciwplatekowa ±DOAC, ryzyko krwawienia lub zdarzeń niedokrwiennych

HD – hemostaza w małopłytkowości (poniżej 90.000), transfuzja płytek krwi

- System do przyłóżkowej diagnostyki
- Certyfikowany CE IVD oraz FDA
- Kompaktowy rozmiar
- Wynik z próbki pełnej krwi w 10–30 minut
- Atrakcyjna cena

T-TAS® zapewnia bezpośrednią obserwację globalnej / ogólnej / skumulowanej funkcji hemostatycznej.



[www.bionicum.com.pl](http://www.bionicum.com.pl) | [bionicum@bionicum.com.pl](mailto:bionicum@bionicum.com.pl) | tel.: +48 605 581 300 | [www.t-tas.info](http://www.t-tas.info)



● **Gabriela Jop**  
Asystent,  
Pracownia Badań  
Konsultacyjnych RCKiK  
Rzeszów



● **Ewelina Krowicka**  
Asystent,  
Pracownia Badań  
Konsultacyjnych RCKiK  
Rzeszów



● **Katarzyna Pacyna**  
Asystent,  
Pracownia Badań  
Konsultacyjnych RCKiK  
Rzeszów

# NIEDOKRWISTOŚCI AUTOIMMUNOHEMOLITYCZNE

**Niedokrwistości autoimmunohemolityczne (NAIH) są stosunkowo rzadko wykrywanymi chorobami. Są one wywołane zaburzeniami w układzie odpornościowym, kiedy to organizm produkuje przeciwciała skierowane do własnych erytrocytów. Dochodzi wówczas do nadmiernego niszczenia krwinek czerwonych, a tym samym skrócenia czasu ich przeżycia.**

**N**ajczęstszym kryterium klasyfikacji NAIH jest aktywność autoprzeciwciał w określonych temperaturach. Możemy wyróżnić:

- NAIH typu ciepłego,
- NAIH typu zimnego, w tym chorobę zimnych aglutynin oraz zimną napadową hemoglobinurię,
- NAIH typu mieszanego.

Krótką charakterystykę poszczególnych typów przedstawia Tabela 1:

**Tabela 1.** Klasyfikacja NAIH

KLASYFIKACJA	NAIH TYPU CIEPŁEGO	CHOROBA ZIMNYCH AGLUTYNIN	ZIMNA NAPADOWA HEMOGLOBINURIA	NAIH TYPU MIESZANEGO
CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA	45-70%	16-35%	1-2%	8%
PRZECIWCIAŁA	IGG	IGM	IGG	IGG+IGM/IGA
BTA (KRWINKI CZERWONE)	IGG, IGG+C3D	C3D, IGM	C3D	IGG, IGM, IGA, C3D
ELUAT (PTA)	AKTYWNY	NIEAKTYWNY	NIEAKTYWNY	AKTYWNY

## NAIH typu ciepłego

Najczęściej występująca niedokrwistość autoimmunohemolityczna to NAIH typu ciepłego z autoprzeciwciałami klasy IgG. Bardzo rzadko są to autoprzeciwciała klasy IgA lub IgM. Charakterystyczną cechą jest aktywność w temperaturze 37°C. Erytrocyty opłaszczane tymi autoprzeciwciałami są niszczone w wyniku hemolizy zewnętrzznacyniowej, w układzie siateczkowo-śródbłonkowym wątroby oraz śledziony.

NAIH typu ciepłego występuje w każdej grupie wiekowej. U dzieci przebieg choroby jest bardziej gwałtowny. Występują ostre obja-

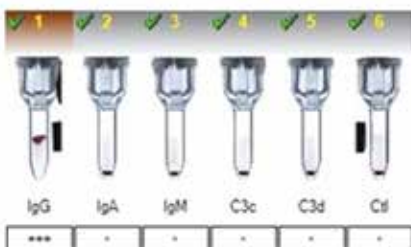
wy tj. wysoka temperatura, silne bóle brzucha, żółtaczką, ciemne zabarwienie moczu. W obrazie USG występuje znaczne powiększenie wątroby i śledziony. Choroba zazwyczaj trwa krótko i ulega całkowitemu wyleczeniu. Etiologią często jest zakażenie bakteryjne lub wirusowe.

U dorosłych NAIH typu ciepłego często postępuje powoli z nieswoistymi objawami tj. ogólne osłabienie, zawroty głowy, duszność przy wysiłku. Z reguły osoby te adaptują się do postępującej hemolizy i do znacznej niedokrwistości. Dopiero przy zaawansowanej NAIH trafiają do lekarza. Zdarza się ostry przebieg choroby z gorączką, bólami brzucha oraz pleców, splenomegalią i hepatomegalią. Wysoki poziom bilirubiny bezpośredniej pochodzący z rozpadu krwinek czerwonych, spadek liczby erytrocytów oraz obniżenie stężenia hemoglobiny doprowadza do złego stanu chorego. Może dojść do zaburzeń neurologicznych, śpiączki, a nawet zgonu pacjenta.

W badaniach obraz NAIH typu ciepłego jest różny w zależności czy choroba ma charakter pierwotny (samoistny) czy wtórny (objawowy). Dla lekarza jak i dla serologa bardzo ważne są informacje o stanie zdrowia pacjenta, o rozpoznaniu choroby lub podejrzeniu istnienia danej jednostki chorobowej. Wywiad, historia leczenia chorego, niekiedy nawet podawane leki są dla nas bezcenną informacją, która pomoże trafnie określić rodzaj niedokrwistości autoimmunohemolitycznej i wejść we współpracę z lekarzem prowadzącym w celu doboru odpowiednich produktów krwiolecniczych. Chorzy na NAIH zazwyczaj wymagają leczenia koncentratem krwinek czerwonych, co wiąże się z dużym ryzykiem alloimmunizacji. Takie osoby muszą być objęte profilaktyką przy doborze KKCz. Oprócz standardowego doboru krwi do transfuzji w układzie ABO i w zakresie antygeny D, stosuje się profilaktykę do antygenów z układu Rh oraz Kell, są to bowiem najbardziej immunogenne antygeny.

Autoprzeciwiata typu ciepłego należą do klasy IgG i są wykrywane w pośrednim teście antyglobulinowym. Ich obecność maskuje wykrywanie alloprzeciwiata odpornościowych, dlatego tak ważna jest immunoprofilaktyka wspomniana powyżej.

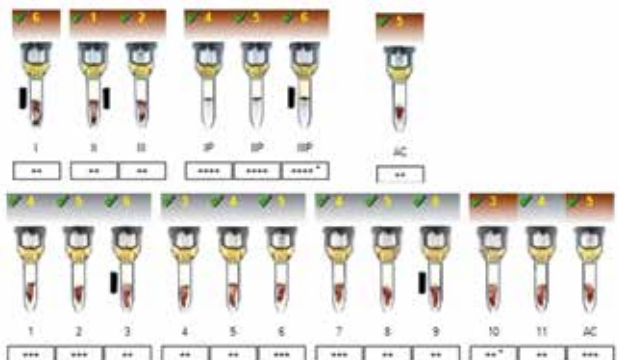
Testem, który wykrywa autoprzeciwiata u chorego, jest bezpośredni test antyglobulinowy (BTA). Wykonuje się go czułą metodą mikrokolumnową z użyciem surowic wieloswoistych anti-IgG+C3 (nie określa, z którym typem NAIH mamy do czynienia, pokazuje tylko możliwość wystąpienia autoprzeciwiata) oraz z użyciem surowic monoswoistych: anti-IgG, -IgA, -IgM, -C3c, -C3d (to badanie specjalistyczne ujawniające dokładnie, jakie występują autoprzeciwiata).



Ryc. 1, Ryc. 2. Przykładowe BTA w NAIH typu ciepłego.

Dalszą diagnostyką w przypadku NAIH typu ciepłego jest potwierdzenie lub wykluczenie autoprzeciwiata klasy IgG opłaszczonych na krwinkach czerwonych. Wykonuje się w tym celu tzw. elucję, która polega na oderwaniu cząsteczek klasy IgG od erytrocytów, wykorzystując do tego kwaśne środowisko odczynników dostępnych komercyjnie. Wiązanie przeciwiata-antygen nie jest trwałe, dzięki czemu istnieje możliwość badania cząstek oderwanych od krwinek czerwonych w tzw. eluacie. Eluat traktuje się jak surowicę/osocze badane i przeprowadza się test z krwinkami wzorcowymi w PTA. Jeżeli reakcja będzie dodatnia potwierdza nam to obecność autoprzeciwiata klasy IgG. Zazwyczaj nie mają one określonej swoistości i reagują ze wszystkimi krwinkami wzorcowymi, ale zdarzają się przypadki, że posiadają określoną swoistość. Do najczęściej wykrywanych autoprzeciwiata o ustalonej swoistości w NAIH typu ciepłego zaliczamy autoprzeciwiata anti-e, anti-c rzadziej anti-f, anti-D, anti-C, anti-E. Warto się wtedy zastanowić nad doбором krwi bez antygeny, z którym reagują autoprzeciwiata, oczywiście jeśli fenotyp biorcy nam na to pozwala.

Oprócz autoprzeciwiata opłaszczonych na krwinkach czerwonych, wykrywamy autoprzeciwiata wolne znajdujące się w surowicy pacjenta. Zazwyczaj dają one reakcje dodatnie ze wszystkimi krwinkami wzorcowymi, co uniemożliwia skuteczne wykrywanie alloprzeciwiata odpornościowych.



Ryc. 3. Typowy obraz NAIH na panelu do identyfikacji alloprzeciwiata.

W celu skutecznej identyfikacji potencjalnie występujących alloprzeciwiata, stosuje się przejście z metody PTA mikrokolumnowej na PTA metodą probówką z użyciem surowicy monowalentnej. Niekiedy ta procedura nie wystarcza przez ilość autoprzeciwiata występujących w surowicy. Należy wtedy wykonać autoadsorpcję lub alloadsorpcję. W skrócie ta metoda polega na „przycięciu”

autoprzeciwiata do krwinek pacjenta lub do specjalnie przygotowanych krwinek wzorcowych (są to dobrane antygenowo krwinki dawców, muszą one posiadać wszystkie istotnie klinicznie antygeny w celu wykluczenia przeciwiata odpornościowych). Autoprzeciwiata wyadsorbowane nie zaburzają docelowego badania, a uzyskane surowice nadają się do wykluczenia lub

identyfikacji alloprzeciwciał metodą próbawkową. Badanie to jest czasochłonne i pracochłonne. Wykonuje się je zgodnie z obowiązującymi przepisami w RCKiK.

W związku z tym, że autoprzeciwciała mają takie same cechy serologiczne jak alloprzeciwciała odpornościowe, następująca wielu trudności przy doborze krwi. Przetaczana krew jest zgodna fenotypowo, natomiast niezgodna serologicznie. Ewentualna obecność alloprzeciwciał odpornościowych musi być zawsze wykluczona, żeby nie doszło do reakcji niepożądanego.

### Choroba zimnych aglutynin (ChZA)

W tej jednostce, autoprzeciwciała typu zimnego odpowiadają za niszczenie erytrocytów. Proces ten nasila się podczas kontaktu chorego z niską temperaturą. Zimne aglutyniny są zazwyczaj przeciwciałami klasy IgM, które mają zdolność aktywacji układu dopełniacza, co skutkuje hemolizą *in vivo*.

ChZA trwa na ogół krótko. Częściej chorują osoby starsze. U dzieci objawy kliniczne pojawiają się nagle. Choroba zimnych aglutynin towarzyszy infekcjom bakteryjnym lub wirusowym (głównie *Mycoplasma pneumoniae*, EBV), a także chorobom limfoproliferacyjnym. Typowymi objawami choroby są: bledność, żółtaczka, powiększenie wątroby i śledziony, purpurowe zabarwienie dystalnych części ciała oraz oddawanie ciemnego moczu.

U pacjentów z ChZA bardzo często obserwuje się charakterystyczną „kaszkę” w próbkach pobranych na EDTA, kiedy to dochodzi do wiązania przez IgM krwinek czerwonych na zimno. Po ogrzaniu ten efekt zanika, dlatego też próbki pacjenta należy koniecznie pobierać „na ciepło” i w temp. 37°C transportować i przechowywać do momentu oddzielenia krwinek od osocza. Oddzielone krwinki niekiedy wymagają kilkukrotnego przemycia roztworem NaCl o temp. 37°C w celu oderwania zimnych autoprzeciwciał IgM związanych z krwinkami.

Wykonujemy następujące badania:

1. BTA z odczynnikami o pojedynczych swoistościach;
2. Badanie obecności alloprzeciwciał odpornościowych z zestawem krwinek wzorcowych;
3. Określenie amplitudy zimnych aglutynin równolegle w temp. 18–22°C, 30°C, 37°C oraz w przypadku stwierdzenia klinicznie istotnych autoprzeciwciał – miano względem krwinek autologicznych oraz grupy 0.

Za klinicznie istotne uznajemy autoprzeciwciała reagujące w zakresie 30–37°C. W takich przypadkach dobiera się do przetoczenia pacjentowi krew zgodną fenotypowo w układzie Rh oraz z układu Kell, po wykluczeniu obecności alloprzeciwciał odpornościowych.



Ryc. 4. Przykładowe BTA w NAIH typu zimnego.

### Napadowa Zimna Hemoglobinuria (NZH)

Najrzadszy typ NAIH, który pojawia się częściej u małych dzieci w przebiegu zakażeń wirusowych i ma charakter przemijający. U dorosłych stwierdzana jest bardzo rzadko. Charakteryzuje się występowaniem hemolizy *in vivo*, co powoduje hemoglobinurę. Odpowiadają za to występujące w surowicy dwufazowe hemolizyny (tzw. Donatha-Landsteiner), które silnie aktywują układ dopełniacza.

Z krwinek wykonujemy BTA, w tym przypadku dodatni wynik obserwujemy tylko ze składnikami dopełniacza (anty-C3d, anty-C3c). W teście na zimne aglutyniny nie wykrywamy wolnych autoprzeciwciał. Wówczas w surowicy poszukujemy dwufazowych hemolizyn, wykonując test Donatha-Landsteiner. Obecność hemolizy w badanych próbkach świadczy o występowaniu dwufazowych hemolizyn.

### NAIH typu mieszanego

U chorych cierpiących na ten typ niedokrwistości występują tzw. autoprzeciwciała mieszane, czyli jednocześnie autoprzeciwciała ciepłe i zimne. Towarzyszą one przede wszystkim chorobom autoimmunologicznym (głównie układowemu toczeniowi rumieniowatemu), a także zakażeniom. Typ mieszany ma najcięższy początek i przebieg spośród innych NAIH. U pacjentów można zaobserwować głęboką niedokrwistość i ciężką, nasiloną hemolizę z burzliwym przebiegiem, jednak możliwa jest również obecność autoprzeciwciał bez żadnych cech NAIH. Czas trwania takiej niedokrwistości zazwyczaj ograniczony jest do kilku tygodni. Leczenie jest podobne jak w przypadku NAIH typu ciepłego, jednak jego efekt pojawia się po dłuższym czasie. Autoprzeciwciała posiadają cechy charakterystyczne dla typu ciepłego i zimnego. Badania serologiczne przy dobieraniu krwi wykonuje się więc tak, jak w przypadku NAIH typu ciepłego i zimnego łącznie. Bezpośredni test antyglobulinowy jest dodatni z surowicami skierowanymi do składników dopełniacza, a także do dwóch lub trzech klas Ig.



Ryc. 5. Przykładowe BTA w NAIH typu mieszanego.

### NAIH zależna od leków

Przyjmuje się, że każdy lek może wywołać objawy hemolizy u danej osoby. Zdarzają się poważne (nawet śmiertelne) powikłania hemolityczne polekowe. Niszczenie erytrocytów zależy od jednego z trzech immunologicznych mechanizmów: mechanizmu haptenów, kompleksów immunologicznych oraz stymulacji do wytworzenia autoprzeciwciał. Tylko ostatni z nich wywołuje typową NAIH, gdzie przeciwciała reagują z antygenami erytrocytów pacjenta.





Wyniki serologicznych badań są wówczas zbliżone do niedokrwistości typu ciepłego i podczas dobierania krwi do transfuzji postępuje się tak samo jak w przypadku tej NAIH. Natomiast gdy mamy do czynienia z działaniem dwóch pierwszych mechanizmów, BTA jest dodatni (IgG, IgG+C3 lub C3), zaś eluat jest nieaktywny. W przypadku NAIH lekozależnej zasadnicze znaczenie ma wywiad kliniczny i jeśli to tylko możliwe, natychmiastowe odstawienie leku.

### NAIH z ujemnym wynikiem bezpośredniego testu antyglobulinowego

NAIH tego typu występuje, gdy objawy kliniczne odpowiadają rozpoznaniu choroby, jednak nie wykrywa się autoprzeciwciał. Ten stan może mieć kilka przyczyn. Jedną z nich są autoprzeciwciała posiadające niskie powinowactwo do antygenów albo takie, które występują w ilościach podprogowych do używanej metody. Ogromnie ważne jest więc stosowanie testów kolumnowych posiadających bardzo dużą czułość. Kolejnym powodem jest fakt, że autoprzeciwciała mogą reagować nie z wszystkimi erytrocytami pacjenta, tylko z ich określoną populacją. Następną przyczyną ujemnego BTA mogą być nietypowe klasy autoprzeciwciał, których odczynnik antyglobulinowy może nie rozpoznać. Nie wykrycie zdarza się także, gdy mechanizmu hemolizy nie można zbadać metodami dostępnymi w laboratorium. Ze względu na wymienione wyżej trudności w wykrywaniu i ocenie autoprzeciwciał, bardzo ważne jest doświadczenie i intuicja wykonującego badanie oraz dobra współpraca diagnosty z lekarzem.

### Podziękowanie

Serdecznie dziękujemy firmie DiaHem Poland za możliwość udostępnienia zdjęć z analizatora IH-500 w naszej publikacji. ●

#### Piśmiennictwo:

1. *Badania immunohematologiczne i organizacja krwiolecznictwa – kompendium*, J. Fabijańska-Mitek, D. Bochenek-Jantczak, A. Grajewska, K. Wiczorek; Warszawa 2017.
2. *Transfuzjologia Kliniczna* pod red. J. Korsak i M. Łętowskiej; Bielsko-Biała 2009.
3. *Immunohematologia. Grupy krwi i niedokrwistości*, J. Fabijańska-Mitek; Warszawa 2018.
4. *Krwiolecznictwo*, R.H. Walker pod red. T. Leżańskiej, E. Wiśniowieckiej; Warszawa 1994.
5. Obwieszczenie Ministra Zdrowia z 6 marca 2019 r. w sprawie dobrej praktyki pobierania krwi i jej składników, badania, preparatyki, przechowywania, wydawania i transportu dla jednostek organizacyjnych publicznej służby krwi.



● **Emilia Wojciechowska**  
Wojewódzki Szpital Specjalistyczny  
im. Marii Skłodowskiej-Curie w Zgierzu

# KOAGULOPATIA ZWIĄZANA Z COVID-19

W grudniu 2019 roku w kilku ośrodkach zdrowia w Wuhan, mieście leżącym w Chinach, odnotowano przypadki zachorowań na zapalenie płuc o niejasnej etiologii. U pacjentów zaobserwowano gorączkę, kaszel, duszność, ból w klatce piersiowej [1]. Wkrótce infekcja rozprzestrzeniła się globalnie. 11 marca 2020 roku Światowa Organizacja Zdrowia (WHO – World Health Organization) ogłosiła pandemię wirusa. Do tej pory zanotowano 196 553 009 przypadków zachorowania na całym świecie [10].

Jako przyczynę infekcji rozpoznano wirusa – nazwano go Koronawirus 2 Ciężkiego Ostrego Zespołu Oddechowego – SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrom*), zaś chorobę COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*). To betakoronawirus wywodzący się z rodziny *Coronaviridae*, do której należą również SARS-CoV oraz MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome – Coronavirus*), które w poprzednich latach także odpowiadały za przypadki ciężkich zapaleń płuc u ludzi [1].

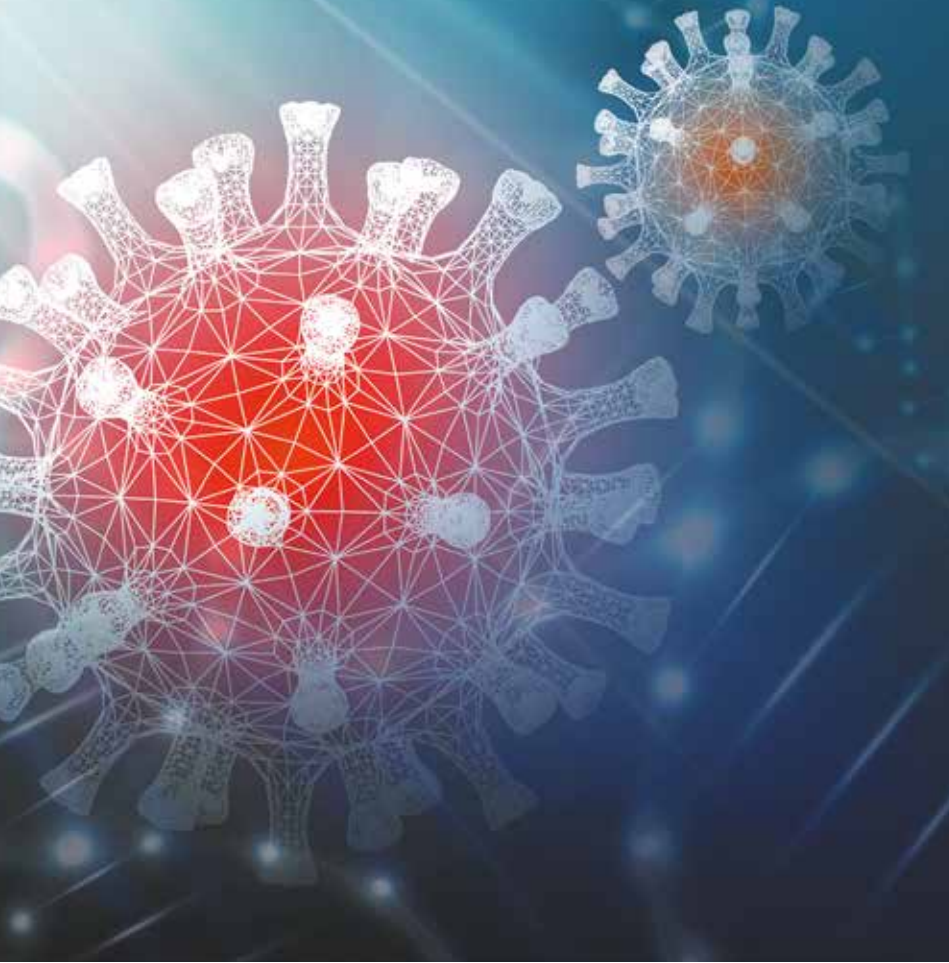
Naukowcy po zsekwencjonowaniu genomu odkryli jego podobieństwo z genomem SARS-CoV wyizolowanym od nietoperzy *Rhinolophus affinis* (96,2%) i podobieństwo z genomem koronawirusa wyizolowanego od nietoperzy gatunku *Rhinolophus malayanus* (93,3%). Obydwa gatunki występują w południowoschodniej części Azji i być może to nietoperze są pierwotnym rezerwuarem wirusa, co sugerują niektórzy uczeni [3].

SARS-CoV-2 jest wirusem osłonkowym. Kształt ma zbliżony do kulistego, a jego średnica wynosi 80–120 nm. Otoczka to dwuwarstwowa błona fosfolipidowa okrywająca jednoniciowe RNA o dodatniej polarności. W otoczce zawarte są: białko M (membranowe lub błonowe) nadające kształt i utrzymujące spójność otoczki, tworzące strukturę wirionu w przestrzeni wewnątrzkomórkowej, E (płaszczka) biorące udział w uwalnianiu dojrzałych wirionów z komórki a także będące kanałem transportowym dla jonów i inhibitorem odpowiedzi komórkowej oraz S (fuzyjne lub glikoproteina powierzchniowa) służące do wnikania do komórki.



Białko N (nukleokapsydu) znajduje się wewnątrz wirusa, chroni jego RNA i jest niezbędne do upakowania materiału genetycznego w nowotworzonych wirionach [1].

Receptorem, do którego przyłącza się CoV-2 okazało się być białko receptorowe, enzym konwertazy angiotensyny 2 (ACE2 – *angiotensin-converting enzyme 2*). Białko S jest glikozylowaną proteiną, która łączy się z tym receptorem. Posiada w swojej strukturze domenę wiążącą receptor (RBD – *receptor – binding domain*), która łączy się z ACE2, dalej dochodzi do proteolitycznego rozcięcia w wielozasadowym miejscu cięcia (PCS) regionu podjednostek S1/S2. Cięcia tego dokonują enzymy katepsyna L, furyna lub transbłonowa peptydaza serynowa 2 (TMPRSS2 – *Transmembrane protease, serine 2*). Wirus wnika do komórki na drodze endocytozy lub fuzji osłonki z błoną cytoplazmatyczną [3, 4, 11]. Białko receptorowe ACE2 wykazuje dużą ekspresję na powierzchni komórek śródbłonka naczyń krwionośnych, komórek nabłonka górnych i dolnych dróg oddechowych, komórek kanalików nerkowych i enterocytów jelit jak również na powierzchni monocytów i makrofagów [1, 4]. Okres inkubacji wirusa może trwać do 14 dni. Początkowymi objawami infekcji są: wysoka gorączka, kaszel, duszność, ból w klatce piersiowej, utrata węchu i smaku, rzadziej wymioty i biegunka. Dowiedziono, że SARS-CoV-2 może przenosić się drogą kropelkową (jako aerozol w powietrzu), poprzez zakażone powierzchnie oraz drogą oralno-fekalną [4, 7]. Wirus namnaża się w komórkach górnych dróg oddechowych



(nosogardziel) i stopniowo atakuje niższe partie (oskrzela, pęcherzyki płucne) doprowadzając do zapalenia płuc [2, 3].

U pacjentów hospitalizowanych z powodu ciężkiego przebiegu zapalenia płuc wywołanego zakażeniem koronawirusem zaobserwowano podwyższone stężenie D-dimerów w osoczu, rzadziej przedłużenie czasów krzepnięcia częściowej trombolastyliny po aktywacji (APTT) i czasu protrombinowego (PT) oraz niewielki spadek liczby płytek krwi. U pacjentów chorych na COVID-19 odnotowano epizody zatorowości, głównie płucnej, zakrzepicy żyłnej kończyn górnych i dolnych, udary mózgu czy zawały serca [5, 6, 8, 9, 11, 12, 14]. W badaniach patomorfologicznych próbek pobranych post mortem stwierdzono obecność zakrzepów w drobnych naczyniach płucnych [14]. Okazało się, że SARS-CoV-2 w dużym stopniu zaburza naturalną równowagę układu krzepnięcia.

Po wnikięciu do komórek gospodarza następuje reakcja odpowiedzi komórkowej organizmu – komórki nabłonkowe wy-

dzielają mucyny, defensyny, laktoferynę i tlenek azotu jako pierwszą linię obrony. Uwolnione dodatkowo interleukina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF $\alpha$  – *tumor necrosis factor*), czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM – *CSF-granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) i czynnik aktywujący płytki (PAF – *platelet-activating factor*) wabią komórki zapalne w miejsce infekcji. Następnie komórki dendrytyczne i makrofagi infiltrują drzewo oskrzelowe, gdzie fagocytują patogen i prezentują antygeny komórkom immunokompetentnym, jak również wydzielają chemokiny, cytokiny i mediatory zapalne. Limfocyty i neutrofile zaczynają naciekać z drobnych naczyń do pęcherzyków płucnych i oskrzeli [7]. Prezentacja antygeny limfocytom T powoduje ich różnicowanie i wydzielanie dużej ilości cytokin niekiedy skutkując wystąpieniem tzw. „burzy cytokinowej” charakterystycznej dla ciężkiego przebiegu COVID-19. Są to głównie interleukina 1 $\beta$ , 6, 8, 21, TNF $\alpha$ , CXCL10 (*C-X-C motif*

*chemokine ligand*), CCL2 (*C-C motif chemokine ligand*), CCL3, CCL5 i TNF $\beta$  [15]. Samo połączenie się białka S z białkiem receptorowym ACE2 bezpośrednio skutkuje wzrostem aktywności czynnika transkrypującego NF- $\kappa$ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) wzmagając wytwarzanie m.in. białka chemotaktycznego monocytów (MCP – *1-monocyte chemoattractant protein-1*), transformującego czynnika wzrostu (TGF $\beta$ 1 – *transforming growth factor  $\beta$ 1*), TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  oraz IL-6 [8]. Powoduje to aktywację komórek śródbłonna, płytek krwi i monocytów. Aktywowany zostaje szlak zewnątrzpochodny kaskady krzepnięcia (na skutek uwolnienia czynnika tkankowego (TF – *tissue factor*) i jednocześnie zaburzone zostają mechanizmy fibrylizacji i obniżone stężenia białek C i S oraz inhibitora szlaku czynnika tkankowego (TFPI – *tissue factor pathway inhibitor*). Ponadto zahamowaniu ulega działanie plazminy na drodze zmniejszonej aktywności tkankowego aktywatora plazminogenu (tPA – *tissue plasminogen activator*) zaś zwiększonej aktywności inhibitora aktywatora plazminogenu – 1 (PAI – *1-plasminogen activator inhibitor-1*). Mechanizmy te mają za zadanie zapobiegać nadmiernej wykrzepianiu się krwi [12, 15]. Białko receptorowe ACE2, będące furką do wnętrza komórki dla koronawirusa, w trakcie zakażenia ulega zmniejszonej ekspresji, aby zapobiegać dalszemu rozwojowi infekcji. Skutkuje to wzrostem aktywności angiotensyny 2 powodując wzrost aktywności PAI-1 [9]. Nadmiar angiotensyny 2 w świetle naczyń krwionośnych zwiększa ciśnienie krwi, obniża stężenie tlenu azotu i promuje adhezję trombocytów i leukocytów do ściany naczyń a jednocześnie obniża aktywność swoistego inhibitora – angiotensyny 1 hamując jej działanie przeciwzapalne i przeciwzakrzepowe [14]. Połączenie się białka S z receptorem ACE2 obecnego na powierzchni śródbłonna naczyń może skutkować aktywacją tych komórek [12]. Może wtedy dochodzić do uwalniania czynnika von Willebranda i czynnika VIII z łańcuch Weibel-Paladego obecnych w cytozolu komórek śródbłonna. Podwyższone stężenia tych czynników zostały stwierdzone w osoczu pacjentów w trakcie zakażenia. Połączenie czynnika

VIII z TF skutkuje aktywacją kaskady krzepnięcia, natomiast wysokie stężenie czynnika von Willebranda sprzyja jego interakcji ze ścianą naczyń i jego aktywacji na jej powierzchni tworząc silnie adhezyjne włókna, do których mogą przyczepiać się płytki krwi [12, 14].

W badaniach immunohistochemicznych tkanek płuc i nerek stwierdzono obecność składowych dopełniacza takich jak białko wiążące mannozę [MBL – *mannose-binding lectin*], C3, C4 i C5b-9. Składowa C3 jest ważnym elementem drogi dopełniacza klasycznej i lektynowej. Drogi te biorą udział w eliminacji patogenu poprzez opsonizację, aktywacji układu humoralnego oraz przyciąganiu neutrofilów i makrofagów. Białka C5a i C5b są składowymi drogi klasycznej prowadzącej do lizy komórki docelowej. C5a reaguje z receptorem C5aR na komórkach śródbłonna, zostaje zaktywowany czynnik tkankowy, zaś aktywność trombomoduliny spada a P-selektyna i czynnik von Willebranda zostają uwolnione. Kompleks C5b-9 łącząc się z błoną komórkową powoduje lizę patogenu, ale również komórek gospodarza. W tej sytuacji może dochodzić do uszkodzenia komórek śródbłonna, z których w wyniku rozpadu uwolnione zostają chemokiny i czynnik aktywujący płytki [7, 13]. Zwiększona ilość neutrofilów m.in. w przestrzeni śródpięcherzykowej i przegrodach międzypięcherzykowych skłoniła do wysnucia wniosku, iż w mikrokrajeniu granulocyty są przyciągane przez składniki dopełniacza i cytokiny (TNF $\alpha$  i IL-8) i mogą tworzyć zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe (NET – *neutrophil extracellular traps*). NET składają się z uwolnionych z wnętrza granulocyta włókien chromatyny i fibryny oplątanych wokół histonów. Mogą one „wyłapywać” bakterie i niejako fizycznie blokować ich dalsze rozprzestrzenianie w organizmie. Obecność NET może też powodować aktywację płytek i wykrzepianie wewnątrznaczyniowe prawdopodobnie poprzez oddziaływanie histonów na receptory toll – podobne (TLR – *toll-like receptor*) obecne na płytkach i innych komórkach. Dochodzi do wzmożonej agregacji trombocytów i tworzenia się trombin. Zewnątrzkomór-

kowe sieci neutrofilowe aktywują klasyczną i lektynową drogę krzepnięcia wzmagając działanie czynnika VIII i TF. Może dojść również do powstania sprzężenia dodatniego, pomiędzy NET a IL – 1 $\beta$ , a także pomiędzy NET a trombiną (która stymuluje płytki), zwiększającego ilość zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych w łożysku naczyniowym. Ostatecznie NET stymulują kompleks kalikreina – kinina aktywujący szlak kontaktowy kaskady krzepnięcia poprzez oddziaływanie histonów z fosfolipidami trombocytów. NET można traktować więc jako skrzyżowanie procesów zapalnych, krzepnięcia i odpowiedzi immunologicznej. Grupę tych zjawisk zachodzących w czasie zakażenia SARS-CoV-2 nazwano koagulopatią związaną z COVID-19 [7, 8, 9]. COVID-19 jest podstępna i niebezpieczną chorobą. U zakażonych pacjentów oprócz zapalenia płuc może dochodzić również do epizodów zakrzepicy występujących w różnych narządach. Koagulopatia związana z COVID-19 zaburza każdą ze składo-

wych triady Virchowa: powoduje zapalenie śródbłonna naczyń, zaburzenie jego funkcji oraz zakłóca przepływ krwi w łożysku naczyniowym; ponadto aktywuje płytki, powoduje wzrost stężenia i aktywności czynnika VIII i czynnika von Willebranda, promuje tworzenie się zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych i produkcję trombin oraz fibryny skutkując formowaniem się skrzepów. Ważne jest, aby klinicyści bacznie obserwowali swoich pacjentów i nie skupiali się tylko na objawach ze strony układu oddechowego. W związku z zachodzącymi procesami wzmożonej krzepliwości u pacjentów zakażonych SARS-CoV-2 może dojść do niewydolności wielonarządowej na podłożu zakrzepicy małych i dużych naczyń krwionośnych w różnych organach doprowadzając do śmierci. Rutynowo powinno zlecać się oznaczanie stężenia D-dimerów oraz podawanie profilaktycznej dawki heparyny drobnocząsteczkowej każdemu hospitalizowanemu choremu [7, 11, 13, 15]. ●

#### Piśmiennictwo:

1. Kirtipal N., Bharadwaj S., Kang S.G.: *From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses*, *Infection, Genetics and Evolution* Volume 85, November 2020, 104502.
2. Sumana Sanyal: *How SARS-CoV-2 (COVID-19) spreads within infected hosts – what we know so far*, *Emerg Top Life Sci.* 2020 Dec 11;4(4):371–378.
3. Hu B., Guo H., Zhou P., Shi Z.L.: *Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19*, *Nat Rev Microbiol.* 2021 Mar;19(3):141–154.
4. Harrison A.G., Lin T., Wang P.: *Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis*, *Trends Immunol.* 2020 Dec;41(12):1100–1115.
5. Fogarty H., Townsend L., Ni Cheallaigh C., Bergin C., Martin-Loeches I., Browne P., Bacon C.L., Gaule R., Gillett A., Byrne M., Ryan K., O'Connell N., O'Sullivan J.M., Conlon N., O'Donnell J.S.: *COVID-19 coagulopathy in Caucasian patients*, *Br J Haematol.* 2020 Jun;189(6):1044–1049.
6. Levi M., Thachil J., Iba T., Levy J.H.: *Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19*, *Lancet Haematol.* 2020 Jun;7(6):e438–e440.
7. Becker R.C.: *COVID-19 update: Covid-19-associated coagulopathy*, *J Thromb Thrombolysis.* 2020 Jul;50(1):54–67.
8. Colling M.E., Kanthi Y.: *COVID-19-associated coagulopathy: An exploration of mechanisms*, *Vasc Med.* 2020 Oct;25(5):471–478.
9. Allegra A., Innao V., Allegra A.G., Musolino C.: *Coagulopathy and thromboembolic events in patients with SARS-CoV-2 infection: pathogenesis and management strategies*, *Ann Hematol.* 2020 Sep;99(9):1953–1965.
10. <https://covid19.who.int/>
11. Lazzaroni M.G., Piantoni S., Masneri S., Garrafa E., Martini G., Tincani A., Andreoli L., Franceschini E.: *Coagulation dysfunction in COVID-19: The interplay between inflammation, viral infection and the coagulation system*, *Blood Rev.* 2021 Mar;46:100745.
12. Mucha S.R., Dugar S., McCrae K., Joseph D., Bartholomew J., Sacha G.L., Militello M.: *Coagulopathy in COVID-19: Manifestations and management*, *Cleve Clin J Med.* 2020 Jul 31;87(8):461–468.
13. Vinayagam S., Sattu K.: *SARS-CoV-2 and coagulation disorders in different organs*, *Life Sci.* 2020 Nov 1;260:118431.
14. Iba T., Connors J.M., Levy J.H.: *The coagulopathy, endotheliopathy, and vasculitis of COVID-19*, *Inflamm Res.* 2020 Dec;69(12):1181–1189.
15. Iba T., Levy J.H., Levi M., Connors J.M., Thachil J.: *Coagulopathy of Coronavirus Disease 2019*, *Crit Care Med.* 2020 Sep;48(9):1358–1364.

● Beata Wiśniewska

# OSOCZE KRWI OZDROWIEŃCÓW JAKO POTENCJALNA TERAPIA U CHORYCH NA COVID-19

## ANALIZA DANYCH UZYSKANYCH W REGIONALNYM CENTRUM KRWIODAWSTWA I KRWIOLECZNICTWA W WARSZAWIE



**P**od koniec grudnia 2019 r. w Wuhan w Chinach pojawiła się nietypowa forma zapalenia płuc o ciężkim przebiegu. W niedługim czasie otrzymała nazwę COVID-19, a powodujący ją patogen SARS-CoV-2<sup>1</sup>. Z uwagi na wysoką zjadliwość, wysoki odsetek przypadków bezobjawowych oraz globalizację, epidemia rozprzestrzeniła się niezwykle szybko na cały świat, przekształcając się w ogólnoswiatową pandemię, co zostało ogłoszone 11 marca 2020 r. przez Światową Organizację Zdrowia (WHO). W ciągu zaledwie kilku tygodni COVID-19 stał się główną przyczyną zgonów w 2020 r., z dużą potencjalną liczbą ofiar śmiertelnych<sup>2</sup>.

SARS-CoV-2 należy do grupy betakoronawirusów. Koronawirus jest wirusem otoczkowym zawierającym cztery białka strukturalne: białko kolców (S), białko błonowe (M), białko otoczki (E) i białko nukleokapsydu (N). Białko S jest głównym antygenem ochronnym, który wywołuje silną odpowiedź ze strony przeciwciał neutralizujących (nAbs) i odgrywa istotną rolę w przyczepianiu się wirusa do komórki gospodarza, fuzji, wejścia i transmisji. Białko S składa się z N-terminalnej podjednostki S1, odpowiedzialnej za wiązanie się wirusa z receptorem oraz C-terminalnej podjednostki S2, odpowiedzialnej za fuzję wirusa z błoną komórkową. W podjednostce S1 można dalej wyróżnić domenę N-terminalną domenę (NTD), a także domenę wiążącą receptor (RBD). RBD podjednostki S1 podlega bezpośredniej interakcji z receptorem gospodarza. Ludzki enzym konwertujący angiotensynę 2 (hACE2) jest receptorem,

do którego przyłącza się cząsteczka wirusa SARS-CoV-2 celem wejścia do komórki gospodarza. nAbs są przeciwciałami, które odpowiadają za powstrzymanie czynników infekcyjnych poprzez neutralizację lub inhibicję ich efektu biologicznego. RBD wewnątrz podjednostki S1 jest najbardziej kluczowym celem dla nAbs wobec SARS-CoV. nAbs mogą utrudniać interakcję RBD i jego receptora ACE2. Stąd, poziom przeciwciał wobec SARS-CoV-2 S-RBD IgG w ludzkiej surowicy lub osoczu koreluje z ochroną odpowiedzią ze strony układu odpornościowego u osób, które przeszły infekcję SARS-CoV2, a także odzwierciedla poziom odporności w populacji, informując o stanie klinicznym pacjentów z przebytym w przeszłości lub trwającym zakażeniem COVID-19<sup>3</sup>. Szybki przyrost liczby zakażeń, także zachorowań o ciężkim przebiegu, wymusił na środowisku medycznym i naukowym opracowanie odpowiednio skutecznych metod leczenia. Jedną z nich stało się podawanie osocza od osób, które przechorowały Covid-19, tzw. ozdrowieńców. Terapia osoczem jest formą biernej immunizacji, w której krew bogata w przeciwciała jest pobierana od ozdrowieńców, a następnie przetwarzana w celu przetoczenia biorcy. Przeciwciała neutralizujące są kluczowymi czynnikami, które blokują wejście wirusa do komórki poprzez wiązanie się z wirusem oraz regulują układ odpornościowy, aby pośredniczyć w fagocytozie komórek odpornościowych i eliminować wirus<sup>4</sup>. Ten sposób terapii osoczem był skuteczny w leczeniu błonicy i tężca od końca XIX wieku, natomiast

<sup>1</sup> [https://informacje.pan.pl/images/2020/opracowanie-covid19-14-09-2020/ZrozumiecCovid19\\_opracowanie\\_PAN.pdf](https://informacje.pan.pl/images/2020/opracowanie-covid19-14-09-2020/ZrozumiecCovid19_opracowanie_PAN.pdf).

<sup>2</sup> Todd C. Lee, Lauren JMacKenzie et al., *An observational cohort study of hydroxychloroquine and azithromycin for COVID-19: (Can't Get No) Satisfaction*, International Journal of Infectious Diseases, Volume 98, September 2020, Pages 216–217.

<sup>3</sup> Ulotka producenta, Snibe Diagnostic, MAGLUMI SARS-CoV-2 S-RBD IgG (CLIA).

<sup>4</sup> Mengyao Sun, Yinghui Xu, Hua He, *A potentially effective treatment for COVID-19: A systematic review and meta-analysis of convalescent plasma therapy in treating severe infectious disease*, International Journal of Infectious Diseases, Volume 98, September 2020

najwcześniejsze pełne dane pochodzą z wybuchu pandemii hiszpańskiej grypy w 1918 r. W późniejszych latach osocze było stosowane w leczeniu Eboli, SARS czy MERS<sup>5</sup>. W Polsce również zaczęto stosować osocze od ozdrowieńców w walce z COVID-19. W odpowiedzi na liczne apele o oddawanie osocza, do Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecnicstwa w Warszawie w okresie od listopada 2020 r. do stycznia 2021 r. zgłosiło się 2461 dawców osocza. W Tabeli 1 przedstawiono podział ozdrowieńców ze względu na liczbę oddanych jednostek krwi, lub jej składników. Poziom przeciwciał w badanych próbkach został określony przy pomocy testu MAGLUMI 2019-nCoV-2 S-RBD IgG (CLIA), który jest niebezpośrednim immunologicznym testem wychwytywania chemiluminescencji. Metoda oznaczenia przebiega w kilku etapach przy użyciu cząstek magnetycznych pokrytych rekombinowanymi antygenami wobec S-RBD, ABEI znakowanego przeciwciałami anty-ludzkimi IgG oraz Starteru, w celu zainicjowania reakcji chemiluminescencyjnej. Sygnał świetlny mierzony jest we względnych jednostkach świetlnych (RLU), które są proporcjonalne do stężenia SARS-CoV-2 S-RBD IgG w próbce badanej.

**Tabela 1.** Zestawienie liczby dawców osocza z uwzględnieniem ilości oddanych donacji.

LICZBA DONACJI	LICZBA OZDROWIENIÓW
1	2161
2	192
3	67
4	21
5	14
6	4
7	2

Na podstawie informacji uzyskanych z ankiet wypełnionych przez dawców oraz wyników badań laboratoryjnych, przeanalizowano poziom wytwarzanych przeciwciał w grupie dawców, którzy oddali 3 i więcej donacji. Z uwagi na poziom wytwarzanych

przeciwciał anty-SARS-CoV-2 oraz wartość kliniczną osocza, ochotnicy zostali poproszeni o oddanie kolejnych jednostek krwi. Badania pozwoliły na podzielenie dawców na pięć grup, w których dodatkowo wyróżniono podgrupy w zależności od poziomu wytwarzanych przeciwciał anty-SARS-CoV-2 (udział procentowy). Pierwsza grupa dotyczy dawców, którzy oddali trzy donacje (Tabela 2). Spadek poziomu przeciwciał anty-SARS-CoV-2 w kolejnych donacjach

wystąpił u 26,9% dawców, wzrost poziomu u 16,4% ozdrowieńców. Z kolei u 49,3% dawców poziom przeciwciał utrzymywał się na stałym poziomie, zaś u 7,5% z nich obserwowano wahania poziomu przeciwciał między kolejnymi donacjami. Dodatkowo w tabelach zamieszczono zadeklarowane przez ozdrowieńców objawy, towarzyszące im podczas choroby (udział procentowy w danej podgrupie). W analogiczny sposób uzyskane rezultaty dla pozostałych grup

**Tabela 2.** Zmiana poziomu przeciwciał anty-SARS-CoV-2 oraz występowanie objawów charakterystycznych dla przebiegu COVID-19 dla ozdrowieńców, którzy oddali 3 donacje.

Zmiana poziomu przeciwciał anty-SARS-CoV-2	Udział %	Gorączka	Duszności	Kaszel	Oslabienie	Bóle mięśni	Utrata wężchu, smaku	Biegunka
Spadek	26,9%	27,8%	5,6%	22,2%	16,7%	22,2%	22,2%	5,6%
Wzrost	16,4%	45,5%	9,1%	27,3%	36,4%	9,1%	27,3%	0
Staly poziom	49,3%	30,3%	6,1%	21,2%	33,3%	27,3%	30,3%	15,2%
Wahania ilości przeciwciał	7,5%	40%	0	0	40%	20%	40%	20%

**Tabela 3.** Zmiana poziomu przeciwciał anty-SARS-CoV-2 oraz występowanie objawów charakterystycznych dla przebiegu COVID-19 dla ozdrowieńców, którzy oddali 4 donacje.

Zmiana poziomu przeciwciał anty-SARS-CoV-2	Udział %	Gorączka	Duszności	Kaszel	Oslabienie	Bóle mięśni	Utrata wężchu, smaku	Biegunka
Spadek	23,8%	20%	20%	40%	20%	0	40%	0
Wzrost	4,8%	bd	bd	bd	bd	bd	bd	bd
Staly poziom	52,4%	18,2%	9%	27,3%	36,4%	18,2%	27,3%	9%
Wahania ilości przeciwciał	19,00%	50%	25%	50%	25%	50%	75%	25%

**Tabela 4.** Zmiana poziomu przeciwciał anty-SARS-CoV-2 oraz występowanie objawów charakterystycznych dla przebiegu COVID-19 dla ozdrowieńców, którzy oddali 5 donacji.

Zmiana poziomu przeciwciał anty-SARS-CoV-2	Udział %	Gorączka	Duszności	Kaszel	Oslabienie	Bóle mięśni	Utrata wężchu, smaku	Biegunka
Spadek	15,4%	50%	0	0	50%	0	50%	0
Wzrost	15,4%	50%	0	50%	100%	50%	50%	50%
Staly poziom	53,80%	57,1%	14,3%	28,8%	57,1%	57,1%	71,4%	0
Wahania ilości przeciwciał	15,4%	100%	50%	100%	50%	50%	100%	50%

<sup>5</sup> Ventura A., Simonovich, M.D., Leandro D., Burgos Prats et al., *A Randomized Trial of Convalescent Plasma in Covid-19 Severe Pneumonia*, Engl J Med 2021; 384:619–629



**Tabela 5.** Zmiana poziomu przeciwciał anti-SARS-CoV-2 oraz występowanie objawów charakterystycznych dla przebiegu COVID-19 dla ozdowieńców, którzy oddali 6 donacji.

Zmiana poziomu przeciwciał anti-SARS-CoV-2	Udział %	Gorączka	Duszności	Kaszel	Oslabienie	Bóle mięśni	Utrata wężchu, smaku	Biegunka
Spadek	50,00%	0	50%	0	50%	50%	100%	0
Wzrost	-	-	-	-	-	-	-	-
Stąły poziom	50,00%	0	0	0	50%	50%	50%	0
Wahania ilości przeciwciał	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tabela 6.** Zmiana poziomu przeciwciał anti-SARS-CoV-2 oraz występowanie objawów charakterystycznych dla przebiegu COVID-19 dla ozdowieńców, którzy oddali 7 donacji.

Zmiana poziomu przeciwciał anti-SARS-CoV-2	Udział %	Gorączka	Duszności	Kaszel	Oslabienie	Bóle mięśni	Utrata wężchu, smaku	Biegunka
Spadek	50,00%	100,00%	0	0	100%	100%	0	0
Wzrost	50,00%	100,00%	0	100%	100%	100%	100%	0
Stąły poziom	-	-	-	-	-	-	-	-
Wahania ilości przeciwciał	-	-	-	-	-	-	-	-

dawców przedstawiono w kolejnych tabelach (Tabela 3, Tabela 4, Tabela 5, Tabela 6).

Na podstawie uzyskanych wyników nie można stwierdzić czy oddawanie kolejnych donacji osocza wpływa na zmniejszenie poziomu przeciwciał u ozdowieńców. Biorąc pod uwagę zaobserwowany wzrost w każdej z grup, raczej należy taką hipotezę wykluczyć. Nie można również określić w sposób jednoznaczny czy poziom przeciwciał anti-SARS-CoV-2 jest bezpośrednio skorelowany z ciężkością zakażenia. Prawdopodobnie jest to indywidualna cecha osobnicza i odnosi się do reakcji układu immunologicznego w kontakcie z wirusem. Na pytanie jak długo utrzymują się przeciwciała w organizmie człowieka oraz na jakim poziomie będą się one kształtować, będzie można być może odpowiedzieć po upływie dłuższego czasu, przy uwzględnieniu większej liczby przeprowadzonych badań. ●



● mgr Sylwia Nakonieczna  
diagnosta laboratoryjny



● mgr Marta Michałkiewicz  
diagnosta laboratoryjny



● mgr Monika Bożemska  
diagnosta laboratoryjny

# EPIDEMIOLOGIA, PATOGENEZA ORAZ DIAGNOSTYKA RAKA ŻOŁĄDKA

Nowotwory są najczęstszą przyczyną zgonów na świecie. Z raportu Światowej Organizacji Zdrowia WHO wynika, że w 2018 roku 9,6 mln osób zmarło z powodu chorób nowotworowych. Rak żołądka jest jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych u ludzi. Światowa Organizacja Zdrowia WHO podaje, że w 2018 roku był on piątym nowotworem, na który najczęściej chorowano i jednocześnie stanowił trzecią przyczynę zgonów z powodu chorób nowotworowych. Jednak z raportu National Cancer Institute wynika, że odsetek zgonów zmniejsza się, spada także liczba odnotowanych nowych przypadków.

Polska jest krajem o umiarkowanej zachorowalności na raka żołądka. Z danych Krajowego Resortu Nowotworów wynika, że w 2015 roku rak żołądka był szóstym najczęściej występującym nowotworem u mężczyzn, stanowiąc 4,3% wszystkich przypadków. Natomiast odsetek zgonów z powodu nowotworu żołądka plasował się na czwartej pozycji, co odpowiada 6,1% wszystkich zgonów nowotworowych.

Niestety, objawy raka żołądka nie są charakterystyczne i dlatego często są lekceważone. Z tego powodu choroba jest diagnozowana zbyt późno, najczęściej już w zaawansowanym stadium. Wczesne objawy raka żołądka to m.in. zapalenie błony śluzowej żołądka, choroba wrzodowa czy refluksowa. Pacjenci zgłaszający się do lekarza informują o bólu w nadbrzuchu, uczuciu pełności, utracie apetytu lub znacznej utracie masy ciała, wspominają także o nudnościach, odbijaniu, wymiotach oraz zaburzeniach w połykaniu. Objawy mogą utrzymywać się przez kilka miesięcy, a z czasem przybierają na intensywności. Następne objawy sugerujące już zaawansowane stadium choroby to wyczuwalny guz w nadbrzuchu, powiększone węzły chłonne, wodobrzusze, ogólne wyniszczenie organizmu, wysięki w jamie opłucnej, a nawet guz Krukenberga, czyli przerzut raka żołądka do jajnika.

## Charakterystyka nowotworu żołądka

Nowotwór może rozwinąć się w każdej części żołądka: we wpuszcie, dnie, trzonie i części odźwiernikowej. Ponad połowa przypadków dotyczy części odźwiernikowej. Rak żołądka pod względem budowy zaliczany jest do grupy raków walczkowato-nabłonkowych. Wyodróżniamy utkanie gruczolakoraka (*adenocarcinoma*), który występuje w postaci: brodawkowatego raka gruczołowego (*papillary-*

*adenocarcinoma*), cewkowego raka gruczołowego (*tubularadenocarcinoma*), śluzowego raka gruczołowego (*mucinousadenocarcinoma*), raka o słabej kohezji i gruczolakoraka z komórek syngnetowatych (rak śluzowo-komórkowy) oraz raka gruczołowego mieszanego (*mixedadenocarcinoma*). Oprócz gruczolakoraków występują także: rak niezróżnicowany (*undifferentiated carcinoma*), rak gruczołowo-płaskonabłonkowy (*adenosquamous carcinoma*) oraz inne rzadziej spotykane.

Najpopularniejszą klasyfikacją raka żołądka jest klasyfikacja Laurena. Wyróżnia ona trzy typy morfologiczne nowotworu:

- **jelitowy** – jego pierwotnym siedliskiem jest błona śluzowa żołądka w obrębie metaplastji jelitowej. Jest to nowotwór wysoko-zróżnicowany, zbudowany z komórek nowotworowych formujących gruczoły. Guzy umiejscowione są w obwodowej części żołądka. Wykazano związek między rozwojem tego typu raka, a zakażeniem *Helicobacter pylori* oraz dysplazją jelitową. W wyniku metaplastji komórki jelitowe pojawiają się ogniskowo w błonie śluzowej żołądka. Typ jelitowy stanowi 54% wszystkich przypadków raków żołądka. Znacznie częściej występuje u mężczyzn i u osób po 50. roku życia.

- **rozlany** – rozwija się z komórek niezmięnionej błony śluzowej. Jest nisko zróżnicowany, nie wykazuje związku z przewlekłym zapaleniem błony śluzowej żołądka. Jego cechą charakterystyczną jest występowanie komórek przypominających komórki śluzotwórcze żołądka, które nie tworzą struktur gruczołowych. Uważa się, że u około 8–10% chorych rak o typie rozlanym ma podłoże genetyczne.

- **mieszany** – ten typ łączy w sobie cechy obu powyższych form: jelitowej oraz rozlanej.



### Czynniki sprzyjające progresji nowotworu żołądka

Z dostępnych badań naukowych wynika, że rak żołądka jest niejednorodny pod względem struktury molekularnej. Na jego rozwój wpływ mają czynniki genetyczne oraz środowiskowe. Za powstawanie i progresję nowotworu odpowiadają mutacje w: onkogenach, genach supresorowych, regulatorach cyklu komórkowego czy genach naprawczych DNA. Badania naukowe wskazują na istnienie zależności między powstawaniem konkretnego typu nowotworu, a uszkodzeniem poszczególnych genów.

### Dieta

W patogenezie raka żołądka szczególną rolę odgrywają czynniki środowiskowe, dlatego tak dużą uwagę zwraca się na zmianę nieprawidłowych nawyków żywieniowych. Odpowiednio zbilansowana dieta wykluczająca niektóre produkty i składniki spożywcze, w znacznym stopniu przyczynia się do zapobiegania zachorowalności na ten nowotwór. Pokarmy niewłaściwie konserwowane, z dużą zawartością soli kuchennej, wędzone i marynowane charakteryzują się wysoką zawartością azotanów. Azotany i azotyny pod wpływem działania soków żołądkowych ulegają przemianie do nitrozoamin, które z kolei uznawane są za związki rakotwórcze. Rakowi żołądka towarzyszy hipochlorhydria. Prawdopodobnie bardziej neutralne pH żołądka sprzyja rozwojowi bakterii redukujących azotany do azotynów.

Niestety, Europejczycy spożywają 9–12 g soli dziennie, a zalecana dawka nie powinna przekraczać 5 g. Przypuszcza się, że co czwarty przypadek zachorowania na raka żołądka związany jest z nadmiernie słoną dietą, która uszkadza nabłonek żołądka i wywołuje jego stany zapalne. Udowodniono również, że spożywanie mięsa czerwonego i mięsa przetworzonego (tj. wędzone, konserwowane czy solone) sprzyja rozwojowi nowotworu ze względu na zawartość dużej ilości hemu. Ten składnik hemoglobiny może podrażniać śluzówkę, a także stymulować bakterie układu pokarmowego do produkcji substancji rakotwórczych. Negatywną rolę w patogenezie raka żołądka odgrywa także palenie tytoniu oraz regularne spożywanie alkoholu.

### Infekcja *Helicobacter pylori*

Przewlekła infekcja *Helicobacter pylori* wpływa na rozwój raka żołądka. Bakterie te zaliczane są do ludzkich kancerogenów. Zakażenie *Helicobacter pylori* jest najczęstszą przyczyną przewlekłego zapalenia śluzówki żołądka, co może prowadzić do raka żołądka. Wyróżnia się następujące etapy choroby: przewlekłe i zanikowe zapalenie błony śluzowej żołądka oraz metaplasja, dysplazja i ostatecznie – rak. Przewlekły proces zapalny prowadzi do zniszczenia komórek okładzinowych żołądka oraz do hipochlorhydrii, czyli do wieloetapowego procesu kancerogenezy żołądka. Siedliskiem drobnoustroju w organizmie człowieka jest warstwa śluzu, pokrywająca komórki nabłonkowe żołądka. Zazwyczaj zakażenie drobnoustrojem przebiega bezobjawowo. *Helicobacter pylori* jest czynnikiem inicjującym indukcję odpowiedzi immunologicznej, prowadzącym do transformacji nowotworowej. Niektóre geny *Helicobacter pylori*, np. cagA i cytotoksyna wakuolizująca vacA – prawdopodobnie zwiększają ryzyko raka żołądka.



Szczepki cag (+) indukują wzmożone uwalnianie prozapalnej cytokiny IL-8, IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , powodując zmiany morfologiczne w komórkach nabłonka żołądka. Infekcja *Helicobacter pylori* wpływa także na wskaźnik proliferacja/apoptoza w komórkach nabłonka żołądka.

### Infekcja EBV

Kolejnym mikroorganizmem, który przyczynia się do zachorowalności na raka żołądka, jest wirus EBV. Wirus ten związany jest z wieloma chorobami, w tym z mononukleozą zakaźną czy chłoniakiem B–komórkowym. W Polsce obecność wirusa Epstein-Barr wykryto u 12,5% badanych chorujących na raka żołądka. Zaobserwowano powiązanie pomiędzy zjawiskiem hipermetylacji w EBV–pozytywnych rakach żołądka. Dotyczy ono przede wszystkim grup genów związanych ze szlakami molekularnymi procesów regulacji cyklu komórkowego (p14, p16, COX2), naprawy uszkodzonego DNA, adhezji komórkowej oraz przerzutowania (E–kadheryna, TIMP–3), angiogenezy, transdukcji sygnału (APC, PTEN), czy apoptozy.

### Markery nowotworu żołądka

Komórki raka żołądka wytwarzają szereg cytokin i czynników wzrostu, takich jak: czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF), IL–8, zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF) oraz endotelialny czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego (PD–ECGF). Wydzielanie mediatorów różni się w zależności od typu histologicznego nowotworu. W raku typu jelitowego większą ekspresję wykazuje rodzina czynników wzrostu fibroblastów, w tym EGF, TGF alfa, EGF–CFC oraz amfiregulina AR. Natomiast w typie rozlanym przeważa ekspresja TGF $\beta$ , IGF II (insulinopodobny czynnik II) oraz zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów. Nadekspresja EGF–CFC związana jest z metaplasją jelitową.

Komórki raka żołądka wytwarzają neuro-pilinę-1 (NRP-1), czyli receptor komórek śródbłonna dla VEGF 2. Natomiast EGF indukuje zarówno ekspresję NRP-1, jak i VEGF – co sugeruje, że regulacja ekspresji NRP-1 w raku żołądka jest ściśle związana z układem EGF / EGFR.

Interleukina 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) jest wytwarzana przez komórki raka żołądka. Odgrywa ważną rolę w ekspresji EGF i receptora EGF, działa jak autokryny czynnik wzrostu komórek nowotworowych. Wzajemne oddziaływanie pomiędzy IL-1 $\alpha$ , a układem EGF/receptor stymuluje rozwój raka żołądka. Podobne działanie wykazuje interleukina 6 (IL-6). Pacjenci z chorobą nowotworową żołądka mają podwyższone jej stężenie w surowicy, co może stanowić czynnik prognostyczny stadium rozwoju guza.

NF- $\kappa$ B jest wszechobecnym czynnikiem transkrypcyjnym, który ulega aktywacji w wielu różnych nowotworach. Białka NF- $\kappa$ B i pozostałe białka tego szlaku są związane z transformacją komórkową, proliferacją, indukcją apoptozy i angiogenezą. NF- $\kappa$ B w komórkach raka żołądka jest konstytutywnie aktywowany, a właściwość ta jest wykorzystywana jako parametr prognostyczny.

### Wykrywanie oraz leczenie nowotworu żołądka

Markery nowotworowe odgrywają ważną rolę w diagnozie nowotworów żołądka. Jednak podstawowym badaniem jest badanie fizykalne. W przypadku stwierdzenia nieprawidłowości pacjent kierowany jest na prześwietlenie górnej części przewodu pokarmowego – żołądek oraz przełyk. W tym badaniu uwidocznione zostają: ściana żołądka oraz jego błona śluzowa. Następnym etapem jest gastroscopia. Podczas tego badania lekarz może pobrać wycinki błony śluzowej do badania histopatologicznego, może też potwierdzić lub wykluczyć obecność bakterii *Helicobacter pylori*, a także może poszerzyć zwężony fragment przewodu pokarmowego, usunąć polipy, czy zatamować krwawienie wewnętrzne. Ostateczną diagnozę stawia lekarz patomorfolog na podstawie pobranych podczas gastroscopii wycinków błony śluzowej. Dzięki określeniu histologicznego rodzaju raka żołądka, pacjent ma ustalone i indywidualnie dobrane metody leczenia.

Dodatkowymi badaniami ułatwiającymi postawienie trafnej diagnozy jest USG jamy brzusznej, KT oraz NMR. Badanie USG jest powszechną, tanią i łatwą w wykonaniu

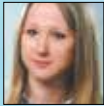


metoda, jednakże nie zawsze skuteczną. Na podstawie tomografii komputerowej dokonuje się oceny lokalizacji punktu wyjścia i ewentualnych kierunków rozprzestrzeniania się zmian rozrostowych.

Leczenie raka żołądka polega głównie na chirurgicznej resekcji zmiany oraz pooperacyjnej chemio- i radioterapii. Mimo to, przeżywalność pooperacyjna jest wciąż niska w porównaniu z innymi nowotworami. Dlatego naukowcy wciąż szukają sposobów na zwiększenie szans wyleczenia pacjentów z tego typu nowotworem. Warto pamiętać o tym, że im wcześniej wykryty nowotwór, tym większa szansa na wyleczenie. Zdrowy styl życia może uchronić przed chorobą, a regularne badania profilaktyczne pozwalają wykryć chorobę na jej wczesnym etapie, co znacznie poprawia rokowania. ●

### Piśmiennictwo

1. Raport New Global Cancer Data: GLOBOCAN 2018, Geneva, Switzerland, 2018.
2. Krajowy resort nowotworów: *Nowotwory złośliwe w Polsce w 2015 roku*. Didkowska Joanna, Wojciechowska Urszula, Olasek Paweł, Warszawa 2017.
3. Fiandalo M.V., Kyprianou N., *Caspase control: protagonists of cancer cell apoptosis*. ExpOncol. 2012;34:165–175.
4. Chunfeng Li, Yimin Wang, Hongfeng Zhang, Man Li, Ziyu Zhu, and YingweiXue; *An investigation on the cytotoxicity and caspase-mediated apoptotic effect of biologically synthesized gold nanoparticles using Cardiospermumhalicacabum on AGS gastric carcinoma cells*; Int J Nanomedicine. 2019; 14: 951–962.
5. Hashem-Dabaghian F., Agah S., Taghavi-Shirazi M., Ghojdi A., *Combination of Nigella sativa and Honey in Eradication of Gastric Helicobacter pylori Infection*. Iran Red Crescent Med J. 2016 Jun 21;18(11):e23771.
6. Li J, Li J, Cai G., Shen L., Lu F; *Proapoptotic and Growth-inhibitory Effects of Plumbagin on Human Gastric Cancer Cells Via Suppression of Signal Transducer and Activator of Transcription 3 and Protein Kinase B*. AlternTher Health Med. 2017 Sep;23(5):42–48.
7. Ueda M., Kikuchi S., Kasugai T., Shunichi T., Miyake C. *Helicobacter pylori risk associated with childhood home environment*. Cancer Sci 2003; 94(10):914–918.
8. Houghton J., Stoicov C., Nomura S., Rogers A.B., Carlson J., Li H., Cai X., Fox J.G., Goldenring J.R., Wang T.C., *Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells*. Science 2004; 306(5701):1568–1571.
9. Takano Y., Kato Y., Saegusa M., Mori S., Shiota M., Masuda M., Mikami T., Okayasu I., *The role of the Epstein-Barr virus in the oncogenesis of EBV (+) gastric carcinomas*. Virch Arch 1999; 434(1):17–22.
10. Czopek J., Stojak M., Sińczak A., Popiela T., Kulig J., Rudzki Z., Stachura J., *EBV-positivegastriccarcinomas in Poland*. Pol J Pathol 2003; 54(2):121–126.
11. Kang G.H., Lee S., Kim W.H., Lee H.W., Kim J.C., Rhyu M.G., Ro J.Y., *Epstein-barr virus-positive gastric carcinoma demonstrates frequent aberrant methylation of multiple genes and constitutes CpG island methylator phenotype-positive gastric carcinoma*. Am J Pathol 2002; 160(3):787–794.
12. Rashid M., Sanjarin F., Sabouni F., *Thymoquinone Effects on Cell Viability, Apoptosis and VEGF-A Gene Expression Level in AGS(CRL-1739) Cell Line*. Anticancer Agents Med Chem. 2019.
13. Chunfeng Li, Yimin Wang, Hongfeng Zhang, Man Li, Ziyu Zhu, and YingweiXue; *An investigation on the cytotoxicity and caspase-mediated apoptotic effect of biologically synthesized gold nanoparticles using Cardiospermumhalicacabum on AGS gastric carcinoma cells*; Int J Nanomedicine. 2019; 14: 951–962.
14. Gupta S.C., Kim J.H., Prasad S., Aggarwal B.B., *Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals*. Cancer Metast Rev. 2010;29:405–34.
15. Hu B., El Hajj N., Sittler S., et al. *Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology*. J. Gastrointest. Oncol. 2012, 3, 251–261.
16. Jeong, S.J., Itokawa, T., Shibuya, M., Kuwano, M., Ono, M., Higuchi, R., & Miyamoto, T. (2002). *Costunolide, a sesquiterpene lactone from Saussureaalappa, inhibits the VEGFR KDR/Flk-1 signaling pathway*. Cancer Letters, 187(1–2), 129–133. doi:10.1016/s0304-3835(02)00361-0.



● mgr Paulina Golińska  
diagnosta laboratoryjny



● mgr Mateusz Sztuka  
diagnosta laboratoryjny



● mgr Joanna Kasperska  
diagnosta laboratoryjny



● mgr Olga Wojtysiak  
diagnosta laboratoryjny



● dr n. farm. Adrian Krygier  
diagnosta laboratoryjny



● mgr Angelika Kasprzak  
biotechnolog



● mgr Izabela Kmiecik  
genetyk



● prof. dr hab. n. farm. Ewa Balcerczak  
diagnosta laboratoryjny

# COVID KOMPENDIUM

Według WHO pod koniec grudnia 2019 roku w mieście Wuhan, położonym w prowincji Hubei w Chinach, pojawiły się pierwsze doniesienia o rosnącej liczbie przypadków zapalenia płuc o nieznannej etiologii [1]. Ze względu na drastyczny przyrost zakażeń rozpoczęto niezwłocznie prace nad identyfikacją czynnika etiologicznego. Wirus, który otrzymał w tamtym czasie nazwę 2019-nCoV (ang. *2019-novel Coronavirus*), został w styczniu 2020 roku oficjalnie uznany za odpowiedzialny za wybuch epidemii [1].

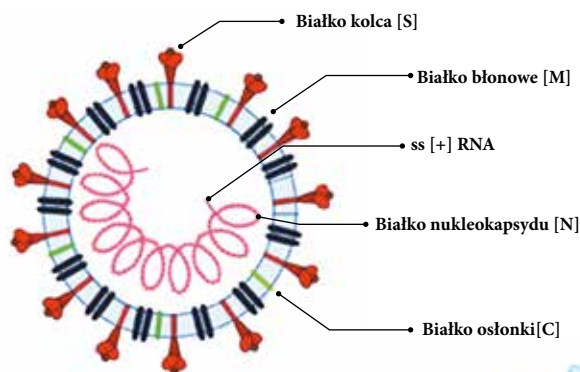
**P**elny genom wirusa został opublikowany 5 stycznia 2020 r. [2]. Patogen otrzymał oficjalną nazwę SARS-CoV-2 (ang. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), zarówno ze względu na podobieństwo genetyczne oraz obraz kliniczny przebiegu choroby wywoływanej przez wirusa SARS-CoV (ang. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*), odpowiedzialnego za pandemię w latach 2002–2003 [3]. Pojawienie się ognisk zakażenia na całym świecie spowodowało, że dnia 11 marca 2020 WHO ogłosiło stan pandemii [4]. Z oficjalnych danych Światowej Organizacji Zdrowia na dzień 26 lipca 2021 r. stwierdza się 194 080 019 potwierdzonych przypadków oraz 4 162 304 zgonów z powodu choroby COVID-19 wywoływanej wirusem SARS-CoV-2 [5]. Stan ogólnoświatowej pandemii zaowocował powstaniem zaleceń dotyczących ograniczenia przemieszczania się ludności, obowiązku stosowania środków ochrony osobistej oraz powstaniem schematów diagnostycznych służących potwierdzeniu zakażenia. Zalecanymi obecnie metodami diagnostycznymi są metody molekularne oparte głównie na reakcji RT-qPCR (ang. *Reverse Transcription-Quantitative Polymerase Chain Reaction*) oraz nowej metodzie RT-LAMP (ang. *Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification*) [6]. RT-LAMP została wraz z aktualizacją z dnia 07 kwietnia 2021 r. dodana do zaleceń jako możliwa do stosowania w ramach POCT (ang. *Point-of-Care Testing*) [6]. Za pomocą powyższych metod możliwe jest wykrycie obecności materiału genetycznego wirusa przed wystąpieniem objawów oraz potwierdzenie zakażenia SARS-CoV-2 u osób z przebiegiem skąpo objawowym [7]. Jest to szczególnie ważne z perspektywy ograniczania rozprzestrzeniania się wirusa przez nieświadome infekcji osoby zakażone. Ponad rok od oficjalnego ogłoszenia pandemii, na rynku diagnostycznym dostępna jest szeroka gama testów molekularnych możliwych do stosowania w rutynowej diagnostyce COVID-19.

## 1. Budowa koronawirusa

Nowy koronawirus posiada budowę charakterystyczną dla rodziny *Coronaviridae*, które stanowią powszechne drobnoustroje powodujące zakażenia zarówno u ludzi jak i zwierząt [8]. Analiza materiału genetycznego pozwoliła ustalić prawdopodobne odzwierzęce pochodzenie SARS-CoV-2. Genom nowego wirusa jest w ~96% podobny do koronawirusa wyizolowanego z nietoperza *Rhinolophus affinis* (Podkowiec pośredni) oraz w dużym stopniu do koronawirusów izolowanych od *Manis javanica* (Łuskowiec jawański) [9].

Materiał genetyczny wirusa SARS-CoV-2 stanowi jednociowe, liniowe RNA o dodatniej polarności (+ssRNA). Koduje ono 9860 aminokwasów i zawiera ok. 3 tysiące nukleotydów. Ze względu na swoją budowę +ssRNA może ulegać bezpośredniej translacji na białka wirusa [10] bez konieczności odwrotnej transkrypcji jak w przypadku wirusa HIV. SARS-CoV-2 posiada 4 główne białka strukturalne – N, M, S oraz E, pozostałe białka stanowią białka pomocnicze. Schemat budowy wirionu został przedstawiony na rycinie 1. Białko N (ang. *Nucleocapsid*) stanowi wysoce immunogeny komponent wirusa SARS-CoV-2. Bierze udział w replikacji wirusa oraz zapewnia helikalną strukturę kapsydu. Białko M (ang. *Membrane*) stabilizuje nukleokapsyd, a także pozostałe białka. Białko E (ang. *Envelope*) jest odpowiedzialne za tworzenie wirionów [11]. Białko S (ang. *Spike*) stanowi najbardziej zmienny fragment wirusa. Zawiera domenę wiążącą receptor (ang. RBD – *Receptor Binding Domain*), która ma powinowactwo do receptora ACE2 (receptora dla konwertazy angiotensyny 2) [9].

Łączenie białka S z receptorem ACE2 stanowi główną drogę wejścia wirusa SARS-CoV-2 do komórki gospodarza. Przeciwciała skierowane przeciwko białku S mają charakter neutralizujący, gdyż blokują wiązanie do receptora i połączenie z komórką [12]. Fakt ten jest



Ryc. 1. Budowa koronawirusa SARS-CoV-2 (3).

wykorzystywany w obecnie dostępnych szczepieniach ochronnych przeciwko COVID-19.

Niezbędna do replikacji wirusa jest RNA zależna polimeraza (RdRp). Bierze ona udział w replikacji i transkrypcji genów SARS-CoV-2. RdRp jest produktem cięcia poliprotein powstających w pierwszym etapie namnażania wirusa w wyniku translacji dwóch otwartych ramek odczytu (ORF – *Open Reading Frame*): ORF1a i ORF1b [4]. ORF stanowi część sekwencji nukleotydowej między kodonami START i STOP, mogącej ulegać translacji na kompletne białko.

Obecność RNA, wykrywanego za pomocą technik molekularnych, dotyczy obszarów kodujących białka strukturalne M, N, S, E oraz sekwencji dla RdRp, ORF1a i ORF1b w materiale biologicznym pobranym z górnych lub dolnych dróg oddechowych. Ich wykrycie stanowi podstawę do potwierdzenia zakażenia wirusem SARS-CoV-2 [6]. Według aktualnych wytycznych PZH [13] oraz WHO [7] zaleca się stosowanie testów wykrywających przynajmniej dwa z wymienionych genów w celu potwierdzenia zakażenia wirusem SARS-CoV-2.

## 2. Diagnostyka molekularna wirusa SARS-CoV-2

### 2.1. Technika Real-Time PCR

Diagnostyka wirusa SARS-CoV-2 przeprowadzana jest w laboratoriach pracujących w ściśle określonych warunkach podwyższonego bezpieczeństwa biologicznego – minimum poziomu BSL2+ [ang. *Biosafety Level 2 Plus*] [14]. Według wytycznych Światowej Organizacji Zdrowia podstawową metodą molekularną pozwalającą na wykrycie wirusa SARS-CoV-2 oraz potwierdzenie zakażenia jest technika RT-qPCR. Wykorzystuje ona reakcję łańcuchową PCR w czasie rzeczywistym wraz z poprzedzającą ją reakcją odwrotnej transkrypcji [ang. *Reverse Transcription, RT*] [14, 15, 13].

Wirus SARS-CoV-2 jest wirusem należącym do grupy koronawirusów z pojedynczą nicią o dodatniej polarności ssRNA(+), dlatego pierwszym etapem diagnostyki wirusa SARS-CoV-2 jest izolacja RNA z materiału biologicznego pobranego od pacjenta jakim jest najczęściej wymaz z nosogardzieli lub gardła i nosa [16, 17]. Następny etap to reakcja odwrotnej transkrypcji, w której dochodzi do przepisania jednociowego RNA na dwuniciową komplemen-

tarną do RNA cząsteczkę cDNA. Cały proces jest możliwy dzięki działaniu enzymu – odwrotnej transkryptazy i poprzedza on właściwą reakcję amplifikacji kwasów nukleinowych [13, 17]. Następnie uzyskane na tym etapie cDNA staje się matrycą dla właściwej reakcji qPCR, która umożliwia wykrycie oraz powielenie wybranych fragmentów poszukiwanych genów za pomocą enzymu polimerazy DNA oraz układu sond i starterów komplementarnych do interesujących fragmentów matrycowego cDNA [13].

W porównaniu do klasycznej reakcji PCR, technika RT-qPCR umożliwia monitorowanie ilości powstających produktów w czasie kolejnych cykli. Jest to możliwe dzięki zastosowaniu związków fluorescencyjnych interkalujących w dwuniciowe cząsteczki DNA lub sond wyznakowanych fluorochromami komplementarnych do powielanych sekwencji [18]. Matrycą dla reakcji RT-qPCR jest dwuniciowa cząsteczka kwasu nukleinowego DNA/cDNA. Przeprowadzenie reakcji RT-qPCR umożliwia dokonanie pomiarów początkowej ilości materiału genetycznego wirusa w badanej próbce. Wyznacza się ją na podstawie numeru cyklu, w którym sygnał fluorescencji osiągnął wartość graniczną, pozwalającą na jego wykrycie [ang. *threshold cycle, Ct*]. Im wyższa wartość Ct, tym wyjściowa ilość RNA wirusa w badanej próbce niższa. Analogicznie im niższa wartość Ct, tym ilość materiału biologicznego wirusa wyższa [14, 17, 18].

Na co dzień technika RT-qPCR stosowana jest w analizie ilościowej poziomu ekspresji genów oraz wykrywaniu ilościowym wirusów RNA. W przypadku wirusa SARS-CoV-2 liczba kopii wirusa, która znajduje się w materiale biologicznym pobranym od pacjenta, nie wpływa na postępowanie diagnostyczne, dlatego w przypadku diagnostyki COVID istotne jest jedynie określenie czy w materiale biologicznym stwierdzono obecność RNA wirusa. Technika RT-qPCR cechuje się wysoką czułością i swoistością diagnostyczną w porównaniu do innych metod stosowanych w diagnostyce SARS-CoV-2, dlatego jest wykorzystywana na szeroką skalę na całym świecie [14, 13].

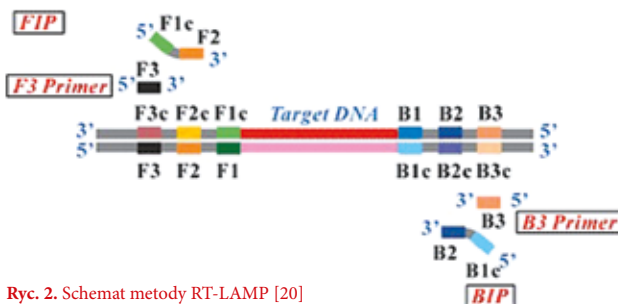
Obecnie dostępnych jest wiele komercyjnych zestawów diagnostycznych pozwalających na wykrycie obecności RNA wirusa SARS-CoV-2 w materiale biologicznym pobranym od pacjenta. Na początku pandemii dostępne testy diagnostyczne były skierowane na wykrywanie genu swoistego dla betakoronawirusów (gen E) oraz fragmentu genu RdRP, który jest charakterystyczny dla wirusa SARS-CoV-2. Ponadto część testów wymagała wykonania badania w dwóch reakcjach z użyciem dwóch osobnych mieszanin reakcyjnych [14, 17]. Obecnie, w miarę poszerzania wiedzy na temat budowy wirusa SARS-CoV-2, pojawiło się wiele testów, dzięki którym identyfikowane są dwa, trzy lub nawet cztery geny dla wirusa jednocześnie. Jest to możliwe dzięki zastosowaniu zestawów opartych o metodę multiplex Real-Time PCR, podczas której stosując sondy możemy ocenić kilka genów wirusa SARS-CoV-2 jednocześnie w jednej próbce. Dodatkowo stosuje się również kontrolę wewnętrzną testu PCR [ang. *Internal control, IC*], która jest sekwencją ludzkiego endogennego kwasu nukleinowego, w celu potwierdzenia poprawności procesu izolacji RNA oraz prawidłowego przebiegu reakcji odwrotnej transkrypcji [13, 14, 15, 17].

Wprowadzenie 3 lub 4 genowych testów komercyjnych pozwoliło na zwiększenie czułości i swoistości analitycznej oraz klinicznej a także na przyspieszenie procesu diagnostycznego. Przeważa za tym fakt, że dostępne na rynku zestawy odczynnikowe przeprowadzają reakcję odwrotnej transkrypcji oraz właściwą reakcję qPCR w jednej próbówce z zastosowaniem jednej mieszaniny reakcyjnej [14, 13, 17].

## 2.2. Diagnostyka molekularna wirusa SARS-CoV-2 – metoda RT-LAMP

W związku z ciągłym wzrostem liczby przypadków COVID-19 na świecie (w tym przypadków nagłych), istotne stało się opracowanie metody opartej na reakcji łańcuchowej polimerazy, która skróci czas oczekiwania na wynik w stosunku do RT-qPCR i będzie możliwa do zastosowania w szpitalnych oddziałach ratunkowych, gdzie otrzymanie szybko wiarygodnego wyniku jest bardzo istotne [19]. Takie cechy posiada opracowana w Japonii technika izotermiczna, tj. przebiegająca w stałej temperaturze, amplifikacji za pośrednictwem pętli RT-LAMP, która została dopuszczona do stosowania jako metoda POCT [20].

Do reakcji RT-LAMP stosuje się od 4 do 6 par starterów mających zdolność hybrydyzacji do 6–8 miejsc w analizowanej sekwencji [20]. Jedną parę stanowią tzw. startery wewnętrzne – dłuższe, stosowane w wyższym stężeniu, aby mogły łatwiej łączyć się do komplementarnego fragmentu nici matrycowej [20]. Drugą parę tworzą startery zewnętrzne, których rolą jest tworzenie dodatkowej nici i zastąpienie tej powstałej po przyłączeniu starterów wewnętrznych [20]. Na rycinie 2. przedstawiono schemat metody (startery zewnętrzne oznaczone są jako F3 i B3, z kolei startery wewnętrzne FIP i BIP) [20].

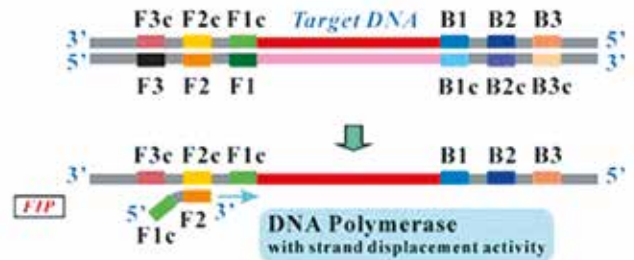


Ryc. 2. Schemat metody RT-LAMP [20]

Cała reakcja przebiega w warunkach izotermicznych, tj. w stałej temperaturze z zakresu 60–65°C, a jest to możliwe dzięki użyciu enzymu polimerazy Bst wytwarzanej przez *Bacillus stearothermophilus*, której cechą jest możliwość zastępowania wcześniej utworzonej nici i jej uwalnianie do mieszaniny reakcyjnej, gdyż jest pozbawiona aktywności egzonukleolitycznej [19, 20]. Polimeraza Bst jest termostabilna, dobudowuje nową nić w kierunku 5'→3' w obecności jonów magnezowych (zachowując aktywność w zmiennych stężeniach tych jonów) [21]. Wykazuje także aktywność odwrotnej transkryptazy, dzięki czemu możliwe jest jej zastosowanie w procesie amplifikacji kwasów rybo-

nukleinowych [21]. Schemat reakcji RT-LAMP przedstawiono na rycinie 3a–3g [20].

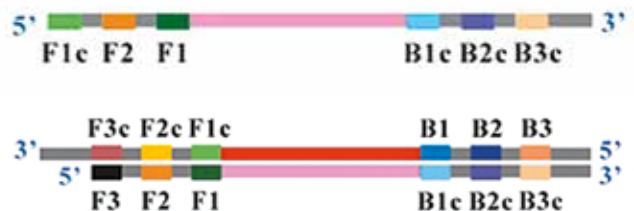
Czas reakcji dzięki zastosowaniu tzw. starterów zapętających jest skrócony do około 20–60 min, co umożliwia szybkie postawienie diagnozy [22, 19].



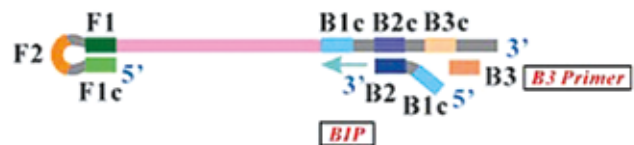
Ryc. 3a. Etap niecykliczny – hybrydyzacja startera wewnętrznego FIP do matrycy F2c i synteza nici komplementarnej [20].



Ryc. 3b. Hybrydyzacja startera wewnętrznego F3 do fragmentu F3c, aktywność polimerazy Bst umożliwia syntezę nowej nici i uwolnienie tej powstałej po przyłączeniu startera wewnętrznego [20].



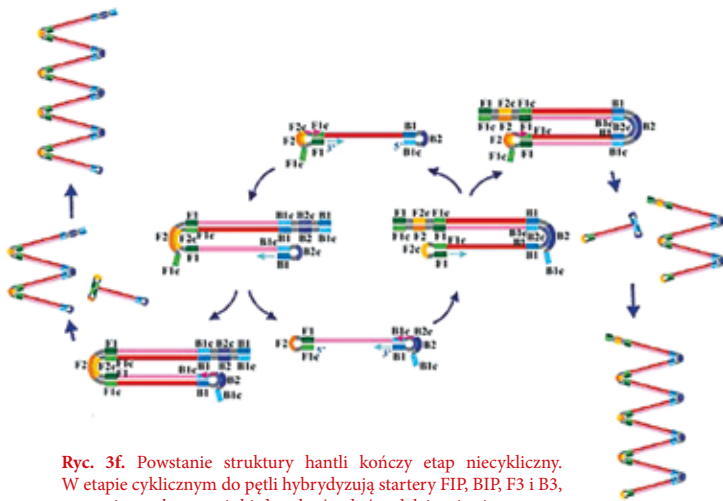
Ryc. 3c. W roztworze obecne cząsteczki dwuniciowe i jednoniciowe fragmenty z możliwością tworzenia pętli na końcu 5' [20].



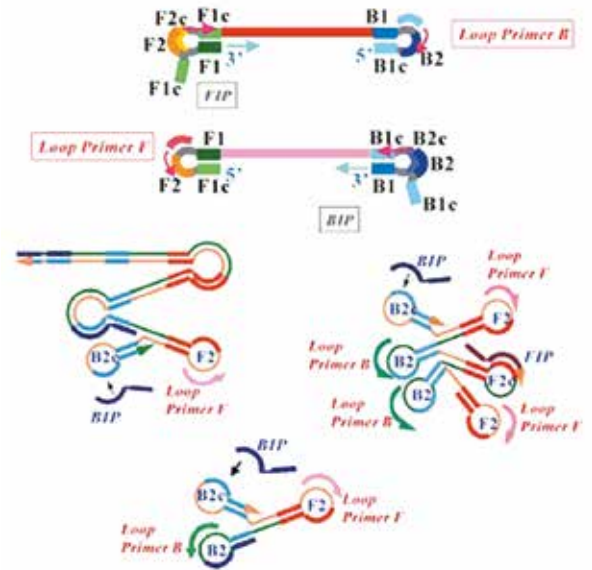
Ryc. 3d. Na końcu 5' tworzą się pętle, natomiast koniec 3' staje się miejscem przyłączenia starterów: wewnętrznego BIP i zewnętrznego B3.



Ryc. 3e. Powtórnie powstają cząsteczki dwuniciowe i jednoniciowe z tendencją do tworzenia pętli na końcu 3' [20]. Dodatkowo w roztworze pojawiają się cząsteczki o strukturze hantli.



Ryc. 3f. Powstanie struktury hantli kończy etap niecykliczny. W etapie cyklicznym do pętli hybrydują startery F1P, B1P, F3 i B3, powstają struktury spinki do włosów, które dalej stają się matrycą przez co powstają różnej wielkości produkty reakcji [20].



Ryc. 3g. Dzięki obecności w mieszaninie reakcyjnej starterów zapętających, reakcja przebiega dużo szybciej i jest bardziej specyficzna dzięki zwiększeniu obecności fragmentów komplementarnych [20].

### 3. Porównanie metod RT-qPCR i RT-LAMP

Porównanie reakcji RT-qPCR i techniki RT-LAMP w diagnostyce infekcji wirusem SARS-CoV-2 zawiera Tabela 1 [23] [20].

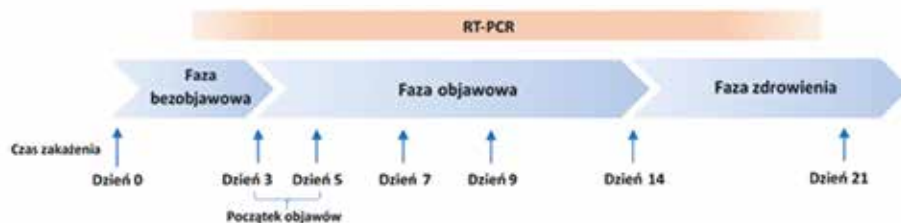
Metoda RT-LAMP może być stosowana jako alternatywa dla RT-qPCR w fazie objawowej. Niestety nie jest odpowiednia do diagnostyki pacjentów w późniejszym etapie choroby oraz do potwierdzenia wyleczenia z wirusa SARS-CoV-2 pacjentów z wcześniejszym

pozytywnym wynikiem. Badania naukowe wykazują, że do 9 dnia od wystąpienia objawów czułość i swoistość RT-LAMP wynosi 100% w porównaniu z RT-qPCR. Jednakże po 10 dniu czułość RT-LAMP znacznie spada i daje zgodność wyników dodatnich między oboma metodami wynoszącą 60% lub mniej [23]. Na Rycinie 4 przedstawiono zalecane zastosowanie RT-LAMP oraz RT-qPCR w zależności od fazy choroby.

Tabela 1. Porównanie reakcji RT-qPCR i RT-LAMP.

	RT-qPCR	RT-LAMP
<b>Reakcja odwrotnej transkrypcji</b>	+ (osobny etap przebiegający w stałej temperaturze, uwzględniony w schemacie temperaturowym całego procesu)	+ (z jednoczesną reakcją amplifikacji cDNA)
<b>Startery</b>	Liczba par starterów hybrydujących do analizowanych sekwencji zależna od liczby analizowanych sekwencji genowych	4-6 par starterów hybrydujących do 6-8 fragmentów analizowanej sekwencji
<b>Denaturacja termiczna</b>	+ (musi nastąpić rozdzielenie nici cDNA celem przyłączenia starterów, polimerazy i sond)	- (wyliminowany ze względu na zastosowanie polimerazy Bst)
<b>Przebieg reakcji PCR</b>	Proces cykliczny (40-45 powtórzeń) składający się z 3 etapów: Denaturacja (95oC) Hybrydyzacja (50-60oC) Elongacja (72oC)	Proces izotermiczny przebiegający w temperaturze 60-65°C
<b>Sondy</b>	Sondy wyznakowane różnymi fluorochromami umożliwiające rozróżnienie analizowanych fragmentów, przyłączające się do fragmentów dwuniciowych	Sondy wyznakowane fluorochromami
<b>Czas trwania reakcji</b>	1,5-3h	20-60 min
<b>Czułość analityczna</b>	10-500 kopii/reakcję, zależnie od zestawu odczynnikowego	100-200 kopii/reakcję, zależnie od zestawu odczynnikowego

<b>Wymagania sprzętowe</b>	Termocykler (do analizy ilościowej lub z układem optycznym do oceny jakościowej)	Termocykler (do analizy ilościowej lub z układem optycznym do oceny jakościowej)
<b>Analiza danych</b>	Analiza krzywych amplifikacji w różnych kanałach detekcji dzięki zastosowaniu sond wyznakowanych różnymi fluorochromami, określenie wartości Ct dla poszczególnych genów	Analiza krzywych topnienia otrzymanych produktów reakcji PCR dla poszczególnych genów
<b>Ocena wyników reakcji</b>	Stwierdzenie obecności poszczególnych produktów reakcji PCR na podstawie wartości Ct uzyskanych dzięki zastosowaniu sond wyznakowanych różnymi barwnikami fluorescencyjnymi, z zastosowaniem kryteriów przyjętych przez laboratorium odnośnie punktów odcięcia (ang. <i>cut off</i> ) dla poszczególnych wartości Ct	Stwierdzenie obecności produktów reakcji metodą kolorymetryczną (bez ich rozróżniania) → w wyniku zmiany pH mieszaniny reakcyjnej dochodzi do zmiany barwy z żółtej na czerwoną → odczyt spektrofotometryczny (niespecyficzny odczyt)  Ocena turbidymetryczna (tj. zmętnieniowa) mieszaniny reakcyjnej → powstający jako produkt uboczny reakcji pirofosforan magnezu powoduje zmętnienie roztworu, co świadczy o obecności produktów reakcji (niespecyficzny odczyt)  Ocena świecenia (fluorescencji) fluorochromów zastosowanych do detekcji produktów reakcji (niespecyficzny odczyt) Analiza poszczególnych krzywych topnienia dla produktów reakcji umożliwia ocenę obecności konkretnych produktów reakcji



**Ryc. 4.** Zalecane zastosowanie testów diagnostycznych RT-qPCR i RT-LAMP w zależności od fazy choroby [6] [23],

#### 4. Interpretacja wyników badań

Wyniki molekularnej diagnostyki wirusa SARS-CoV-2, które wydają Medyczne Laboratoria Diagnostyczne to wynik pozytywny, wynik negatywny oraz wynik nierozstrzygujący [15, 13].

Według zaleceń PZH wynik pozytywny (potwierdzający zakażenie wirusem SARS-CoV-2) wydany jest wtedy kiedy zostaną wykryte minimum dwa geny (jeden przesiewowy oraz przynajmniej jeden swoisty dla wirusa SARS-CoV-2). Wynik negatywny wydany jest przy braku obecności poszukiwanych markerów genetycznych wirusa SARS-CoV-2 w materiale badanym [13].

W przypadku, gdy wynik dodatni budzi wątpliwości (na przykład jest to wynik słabo dodatni, na granicy czułości analitycznej, co może wynikać z różnego poziomu replikacji wirusa), zgodnie z wytycznymi WHO diagnosta laboratoryjny ma prawo wydać wynik „nierozstrzygujący” i dodatkowo zlecić pobranie do badania kolejnej próbki po 24–48 godzinach od momentu ostatniego pobrania [14, 13].

Kryterium interpretacji wyniku RT-qPCR dla poszczególnych genów jest uzyskana wartość Ct. Dostępne na rynku zestawy diagnostyczne wirusa SARS-CoV-2 mają swoje punkty odcięcia (tzw. *cut-off*) dla różnych Ct, dla których uzyskana wartość interpretowana jest jako dodatnia (wykryto gen wirusa) lub ujemna (nie wykryto genu wirusa). Można je znaleźć w zaleceniach producenta zestawu diagnostycznego [14, 13, 17].

W przypadku metody RT-LAMP wynik dodatni, ujemny lub nierozstrzygujący jest wydawany na podstawie zmiany koloru lub zmętnienia mieszaniny reakcyjnej (odczyt kolorymetryczny lub metoda turbidymetryczna). Możliwa jest analiza na podstawie krzywych topnienia produktów reakcji.

#### 5. Dostępne na rynku zestawy do diagnostyki wirusa SARS-CoV-2

Na podstawie informacji zawartych w internetowej bazie danych „Find Diagnosis for all”, zawierającej informację na temat obecnie dostępnych zestawów odczynnikowych do diagnostyki wirusa SARS-CoV-2 dokonano przeglądu i porównania obecnych na rynku komercyjnych testów. Wybrano do zestawienia 167 testów posiadających certyfikat CE-IVD (ang. *Conformite Europeenne-In Vitro Diagnostic*). W bazie dostępne są również testy RUO (ang. *Research Use Only*), jednakże jest ich stosunkowo niewiele, dlatego skupiliśmy naszą uwagę na tych z certyfikatem CE-IVD. W kryteriach wyszukiwania uwzględniono również: testy NAAT (ang. *Nucleic Acid Amplification Test*), status zestawu jako dostępny do użytku komercyjnego (ang. *Commercialised*) oraz metodę wykonania jako manualną (ang. *Manual*).

W Tabeli 2 przedstawiono podział wybranych zestawów diagnostycznych pod kątem liczby i rodzaju wykrywanych genów oraz metody oznaczania.

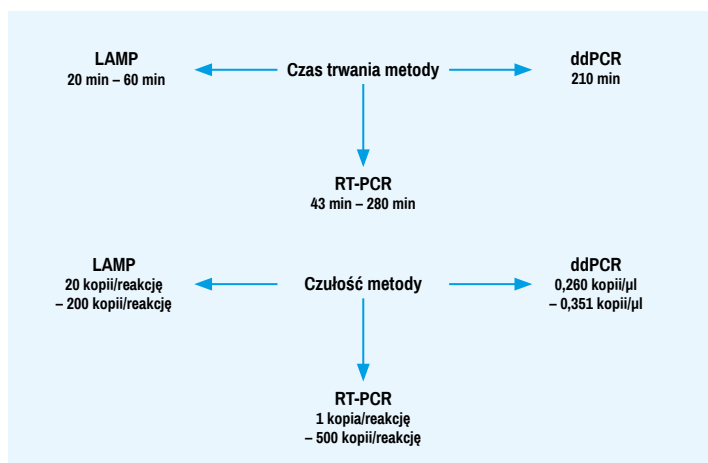
Rodzaj testu [ilość]	RT-qPCR [160]			LAMP [6]	
		Wykrywane geny	Ilość testów	Wykrywane geny	Ilość testów
Ilość genów	1 gen	ORF1ab	1,00	N	1
		Ngen	10,00		
		RdRp	1,00		
		E	1,00		
	2 geny	RdRp, M	1,00	RdRp, N	3
		RdRp, S	3,00		
		RdRp, E	16,00		
		E, S	1,00		
		ORF1ab, RdRp	2,00		
		S, N	2,00		
		RdRp, N	20,00		
		ORF 8, N	1,00		
		E, N	4,00		
		ORF8, E	2,00		
		ORF1ab, S	1,00		
		ORF1ab, N	41,00		
	3 geny	N1, N2	2,00	N, S	2
		ORF1ab, E	7,00		
		RdRp, S, N	2,00		
		ORF1b, N, E	14,00		
		RdRp, E, N	8,00		
		RdRp Target 1 i 2, N	1,00		
		ORF1ab, N, S	5,00		
4 geny	ORF1ab, E, S	1,00	brak	brak	
	N1, N2, RdRp, E	1,00			
	ORF1ab, N, E, S	1,00			
	RdRp, E, N, S	2,00			

**Tabela 2.** Podsumowanie dostępnych molekularnych testów diagnostycznych do wykrywania wirusa SARS-CoV-2. Opracowane na podstawie bazy „Find Diagnosis for all”. Stan na czerwiec 2021.

Na podstawie analizy powyższej tabeli można wywnioskować, że dostępne na rynku zestawy diagnostyczne są głównie oparte na technice RT-qPCR (160 zestawów). Najwięcej z nich wykrywa dwa geny wirusa SARS-CoV-2. Najczęściej jest to gen ORF1ab oraz gen N. Najmniej jest natomiast testów czterogenowych.

Dostępny na rynku jest także jeden test CE-IVD na podstawie metody ddPCR [ang. *Droplet Digital PCR*] – 3 wykrywane geny: N1, N2, RPP30. Metoda ta oparta jest na frakcjonowaniu badanego materiału na 20 000 kropli o niewielkiej objętości (nanolitry) i niezależnej amplifikacji matrycy w każdej z nich. Jest to jednakże metoda czasochłonna i stosunkowo droga [24]. Wysoka czułość tej metody może się wiązać ze zwiększonym odsetkiem wyników fałszywie dodatnich. W końcowej fazie zakażenia ładunek wirusa jest na tyle mały, że można uznać pacjenta za niezakażającego [25]. Przeprowadzono również ocenę wybranych testów komercyjnych pod kątem czasu trwania reakcji oraz czułości diagnostycznej testu [Rycina 5].

Na podstawie analizy Ryciny 5 można stwierdzić, że ze wszystkich trzech metod najkrótszy czas właściwej



**Ryc. 5.** Schemat z uwzględnieniem czułości i czasu trwania reakcji dla dostępnych metod molekularnych stosowanych w diagnostyce SARS-CoV-2.

reakcji ma technika LAMP – mieści się w przedziale 20–60 minut. Biorąc po uwagę czułość diagnostyczną, najbardziej czułe są testy oparte na metodzie ddPCR.



## Podsumowanie

Pandemia choroby COVID-19 w istotny sposób podkreśliła rolę diagnostyki molekularnej w identyfikacji zakażeń. Efektywne wykrywanie przypadków zakażeń SARS-CoV-2 pozostaje jednym z najważniejszych aspektów walki z pandemią. Duże zapotrzebowanie spowodowało znaczny wzrost ilości dostępnych testów diagnostycznych. Na dzień dzisiejszy najwięcej dostępnych testów komercyjnych opiera się na metodzie RT-qPCR. Ponad połowę stanowią testy dwugenowe. Testy oparte na RT-LAMP wykrywają od 1 do 2 genów [Tabela 1]. Przy doborze odpowiedniego testu należy uwzględnić zarówno jego czułość jak i ilość wykrywanych genów. Jest to szczególnie ważne z perspektywy pojawiania się doniesień o nowych groźnych mutacjach SARS-CoV-2 – im więcej wykrywanych genów, tym większa specyficzność. Ze względu na zastosowanie różnych fluorochromów, możliwy jest odczyt w wielu kanałach i jednoczesne wykrywanie kilku genów w jednym naczyniu reakcyjnym bez wpływu na czas samej reakcji.

Dużym zarzutem wobec najczęściej stosowanej metody RT-qPCR jest przede wszystkim jej czasochłonność [kilka godzin od wymazu do wyniku], mimo to dalej pozostaje złotym standardem w diagnostyce zakażeń wirusem SARS-CoV-2. Przemawia za tym

fakt, że spośród dostępnych metod molekularnych daje możliwość wykrycia wirusa zarówno w fazie bezobjawowej na początku zakażenia, fazie objawowej jak i w fazie zdrowienia (w przeciwieństwie do RT-LAMP, której czułość jest największa w fazie objawowej) przy znacznie krótszym czasie przygotowania próbki w porównaniu z bardzo czułym ale czasochłonnym ddPCR. Pomimo, że RT-LAMP cechuje się krótkim czasem reakcji [do 60 min] [Rycina 5], brakiem konieczności wcześniejszej izolacji kwasu nukleinowego oraz możliwością prostego odczytu kolorymetrycznego, to ze względu na znaczny spadek czułości w kolejnych dniach zakażenia [23], pozostaje dalej metodą zalecaną do użytku w ramach POCT. Niska czułość RT-LAMP na początku zakażenia na ten moment dyskwalifikuje tę metodę jako test przesiewowy. Nie należy jednak wykluczać, że przy odpowiedniej optymalizacji może ona być w przyszłości stosowana na równi z RT-qPCR w rutynowej diagnostyce SARS-CoV-2. Obecnie dostępnych jest wiele narzędzi do wykrywania zakażenia wirusem SARS-CoV-2. Należy zawsze pamiętać, że powyższe badania powinny być wykonywane w ściśle określonych warunkach przez przeszkolony personel w celu uniknięcia kontaminacji próbki oraz zakażenia osób wykonujących oznaczenia. ●

### Piśmiennictwo:

- Corman V. M., Landt O., Kaiser M., Molenkamp R., Meijer A., Chu D. K., Bleicker T., Brünink S., Schneider J., Schmidt M. L., Mulders D. G., Haagmans B. L., van der Veer B., van den Brink S., Wijsman L., Goderski G., Romette J. L., Ellis J. et. al, 2020, *Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR*, „Euro surveillance : bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin”, 25(3), 2000045.
- van Dorp L., Acman M., Richard D., Shaw L. P., Ford C. E., Ormond L., Owen C. J., Pang J., Tan C., Boshier F., Ortiz A. T., & Balloux F., 2020, *Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2*, „Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases”, 83, 104351.
- Drulis-Kawa Z., *Koronawirus Sars-CoV-2 Biologia Wykrywanie i Zwalczanie*, 2020, [online] <https://uni.wroc.pl/koronawirus-sars-cov-2-biologia-wykrywanie-i-zwalczanie/>.
- Baby K., Maity S., Mehta CH., Suresh A., Nayak UY., Nayak Y., 2020, *Targeting SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase: An in silico drug repurposing for COVID-19*, 23(9), 1166.
- <https://covid19.who.int/>
- Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji. Diagnostyka laboratoryjna SARS-CoV-2 Aktualizacja Zaleceń Wersja 2.0, 2021, [online] <https://www.aotm.gov.pl/media/2021/04/Diagnostyka-laboratoryjna-SARS-CoV-2-%E2%80%93-aktualizacja-Zalecen-wersja-2.0-7-kwietnia-2021-r.pdf>.
- WHO, *Technical specifications for selection of essential in vitro diagnostics for SARS-CoV-2*, 2021, [Online] [https://www.who.int/teams/health-product-and-policy-standards/assistive-and-medical-technology/medical-devices/priority-medical-devices-for-covid-19&publication=WHO-2019-nCoV-Essential\\_IVDs-2021.1](https://www.who.int/teams/health-product-and-policy-standards/assistive-and-medical-technology/medical-devices/priority-medical-devices-for-covid-19&publication=WHO-2019-nCoV-Essential_IVDs-2021.1).
- Zawilinska B., Szostek S., *Koronawirusy o niskiej i wysokiej patogenności, zakażające człowieka*, „Zakażenia XXI wieku” 2020, 3(1), 7-16.
- Andersen K. G., Rambaut A., Lipkin W. I., Holmes E. C., Garry R. F., 2020, *The proximal origin of SARS-CoV-2*, „Nature medicine”, 26(4), 450-452.
- Kuczyńska K., Zawilska J. B., Badura J., Streh B., 2021, *Wirus SARS-CoV-2: pochodzenie, budowa i cykl replikacyjny*, „Biologia Molekularna”, 3(77), 143-149.
- Astuti I., Ysrafil, 2020, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response*, „Diabetes & metabolic syndrome”, 14(4), 407-412.
- Zhou G., Zhao Q., 2020, *Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2*, „International journal of biological sciences”, 16(10), 1718-1723.
- Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego, 2021, *Rekomendacje NIZP-PZH w zakresie diagnostyki molekularnej SARS-CoV-2*. [online] <https://www.pzh.gov.pl/wp-content/uploads/2020/04/Rekomendacje-w-zakresie-diagnostyki-molekularnej-SARS-CoV-2.pdf>.
- Pancer K., Nowakowska M., Kołakowska-Kulesza A., Zacharczuk K., Zasada A. A., Szymański K., Wdowiak K., Hallman E., 2020, *Molekularna diagnostyka COVID-19 - dotychczasowe doświadczenia*, „Postępy Biochemii”, 66(4), 316-322.
- World Health Organization. *Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance*, 19 March 2020. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. [Online] 2020. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331501>.
- Polz-Dacewicz M., *Novel coronavirus – SARS CoV-2*, „Pol J Public Health”, 4(129), 113-117.
- Grabarczyk P., Sulkowska E., Kopacz A., 2021, *Diagnostyka molekularna SARS-CoV-2*, „J. Transf. Med.” 14, 1-9.
- Studzńska A., Tyburski J., Dąca P., 2008, *PCR w czasie rzeczywistym. Istota metody i strategii monitorowania przebiegu reakcji*, „Biotechnologia” 80(1), 71-85.
- Subali A., Wiyono L., 2021, *Reverse Transcriptase Loop Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) for COVID-19 diagnosis: a systematic review and meta-analysis*, „Pathog Glob Health” 4, 1-11.
- Wąsowicz B., Soroka M., 2018, *Technika LAMP jako potencjalne narzędzie w analizach kryminalistycznych*, „KOSMOS Problemy Nauk Biologicznych”, 67(3), 565-573.
- Stenesh J., Roe B., 1972, *DNA polymerase from mesophilic and thermophilic bacteria: I. Purification and properties of DNA polymerase from Bacillus licheniformis and Bacillus stearothermophilus*, „Biochim. Biophys Acta” 272, 156-166.
- Huang W., Lim B., Hsu C., Xiong D., Wu W., Yu Y., Jia H., Wang Y., Zeng Y., Ji M., Chang H., Zhang X., Wang H., Cui Z., 2021, *RT-LAMP for rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2*, „Microbial Biotechnology”, 13, 950-961.
- Inaba M., Higashimoto Y., Toyama Y., Horiguchi T., Hibino M., Iwata M., Imaizumi K., Doi, Y. 2021, *Diagnostic accuracy of LAMP versus PCR over the course of SARS-CoV-2 infection*, „International journal of infectious diseases” 107, 195-200.
- Tedim A.P., Almansa R., Domínguez-Gil M., González-Rivera M., Micheloud D., Ryan P., Méndez R., Blanca-López N., Pérez-García F., 2021, *Comparison of real-time and droplet digital PCR to detect and quantify SARS-CoV-2 RNA in plasma*, „European Journal of Clinical Investigation”, 6(51), e13501.
- Walsh K. A., Jordan K., Clyne B., Rohde D., Drummond L., Byrne P., Ahern S., Carty P. G., O'Brien K., 2020, *SARS-CoV-2 detection, viral load and infectivity over the course of an infection*, „The Journal of infection”, 3(81), 357-371.



● **Grzegorz Zygmunt Hellich**  
adwokat, Prawnik Zespołu Prawnego  
Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych

# MNIEJ LICZNI NIE ZNACZY MNIEJ WAŻNI



**Wystąpienie globalnej pandemii koronawirusa doprowadziło do szeregu zmian i przeobrażeń w każdej z dziedzin naszego życia. Pierwsza linia tych zmian dotyczyła w szczególności sposobu organizacji systemu udzielania świadczeń zdrowotnych oraz zapewnienia odpowiedniego bezpieczeństwa zdrowotnego. Wymagało to szybkiej adaptacji do nowej rzeczywistości, celem zabezpieczenia populacji.**

**O**kres trzech lockdownów pokazał, że sporą część pracy można realizować zdalnie, a część w systemie mieszanym. Okres ten pokazał też, że pewne kluczowe zawody dla systemu, które dotychczas często realizowały swoje zadania w cieniu innych, bardziej widocznych lub bardziej rozpoznawalnych, nie mogą zostać wysłane na tzw. homeoffice, gdyż po prostu nie mogą ich zdalnie wykonywać.

Diagności Laboratoryjni są przedstawicielami właśnie takiego zawodu. Ich obecność w polskim systemie świadczenia usług medycznych nigdy nie była kwestionowana, ale nigdy dotąd nie było ona równie widoczna. Dopiero stan epidemii COVID-19 zwrócił uwagę blisko czterdziestomilionowego społeczeństwa na to, jak bardzo ich losy zależą raptem od 17 tysięcy Diagnostów Laboratoryjnych.

Konieczność zabezpieczenia populacji przed nieznanym wcześniej wariantem zagrożenia wskazała, jak istotna jest konieczność zapewnienia stałego zabezpieczenia odcinka świadczeń medycznych realizowanych w ramach medycznych laboratoriów diagnostycznych przez Diagnostów Laboratoryjnych. Dopiero w trakcie epidemii COVID-19 społeczna świadomość społeczna na

temat zawodów medycznych poszerzyła się z grupy obejmującej lekarzy, pielęgniarki, położone i ratowników również o grupę zawodową Diagnostów Laboratoryjnych, jako osoby zaangażowane w proces leczenia na etapie diagnostycznym. Czy to znaczy, że wcześniej, przed wystąpieniem epidemii COVID-19 udział Diagnostów Laboratoryjnych w udzielaniu świadczeń medycznych był mniejszy? Nic bardziej mylnego.

Diagności laboratoryjni stanowią około 3% przedstawicieli zawodów medycznych, których łączna liczba w Polsce oscyluje w okolicach 550 000 osób. Specyfika konstrukcji łańcucha udzielania świadczeń zdrowotnych, wskazuje, że jeden diagnosta przypada średnio na około 10 lekarzy, 20 pielęgniarek 4 fizjoterapeutów i 2 farmaceutów. Mimo, że Diagności Laboratoryjni są najmniej liczną grupą zawodową spośród zawodów medycznych posiadających samorządy zawodowe, nie sposób stwierdzić, by była to grupa mniej ważna od pozostałych.

Diagności Laboratoryjni jako zawód regulowany w drodze ustawy świętują 20 lecie przyjęcia ustawy o diagnostyce laboratoryjnej i utworzenia samorządu zawodowego. Zgodnie z zobowiązaniami Ministerstwa Zdrowia ustawa ta powinna niebawem zostać zastąpiona przez ustawę o medycynie laboratoryjnej. Obserwując dynamiczne tempo zmian społecznych oraz prawnych wywołanych epidemią oraz tego, jak to zagrożenie wpłynęło na cały sektor medyczny należało zacząć się zastanawiać, jak te zmiany wpłyną w przyszłości na pozycję diagnostów laboratoryjnych w systemie udzielania świadczeń zdrowotnych.

W związku z powyższym na prośbę Pani Aliny Niewiadomskiej Prezesa Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych, już w 2020 roku Zespół Prawny KIDL przedstawił koncepcję zainicjowaną i opracowaną przez autora niniejszego artykułu, która zakładała asymetryczne podejście do wyzwań stojących przed Izłą tj. która zakłada przeniesienie na grunt Izby, a tym samym na grunt całego sektora usług medycznych, zarządzania w stylu VUCA. Termin ten oznacza zarządzanie z uwzględnieniem zmienności

[*volatility*], niepewności [*uncertainty*], złożoności [*complexity*] i niejednoznaczności [*ambiguity*] ogólnych warunków i sytuacji. Wskutek podjętych wspólnie w Izbie rozmów, a następnie dalszych prac, wypracowana została metoda analizy asymetrycznej. Metoda ta w nowym ujęciu prezentuje metody reagowania na wyzwania stojące przed Krajową Izbą Diagnostów Laboratoryjnych na rok 2021 i lata następne.

Dynamika zdarzeń roku 2020 oraz 2021, jak również prognozy na rok 2022 wskazują, że sposób, w jaki funkcjonują wszystkie zawody medyczne będzie ulegać dalszym przeobrażeniom. Z tego też względu kształtować się będą linie porozumień oraz identyfikowane będą wspólne interesy różnych grup w ramach środowiska medycznego. Analogicznie tworzyć będą się również osie sporów, gdyż w sytuacji ograniczonych zasobów, często przyznawanych przez te same centralne organy, dochodzić będzie do spięć pomiędzy zainteresowanymi ich pozyskaniem odbiorcami. Tradycyjne metody rozwiązywania sporów cechuje stosunkowo niewielka skuteczność, gdyż mają na celu bardziej obniżanie napięcia związanego z różnicą poglądów oraz postrzegania sytuacji niż ich rozwiązywanie, gdyż nie usuwają przyczyn konfliktów, ale powodują jedynie, że wchodzi one w fazę utajnienia. Podstawowym celem analizy asymetrycznej jest zaś określenie potencjal-

nych zysków i strat płynących z przyjęcia lub porzucenia określonego rozwiązania.

Każdy z problemów może wymagać zaangażowania różnych środowisk i różnych grup celem jego rozwiązania. Problemy mogą mieć naturę polityczną, ekonomiczną lub społeczną, mogą też być problemami wynikającymi z określonych przewidywalnych bądź nieprzewidywalnych ryzyk. Mogą też stanowić próbę przeciwdziałania określonym doraźnym zagrożeniom i wyzwaniom. Skorzystanie z analizy asymetrycznej pozwoli ustalić, w jaki sposób konkretny problem wpływa na społeczeństwo. Pozwala również wskazać, jak społeczeństwo będzie postrzegało wpływ problemu na środowisko medyczne oraz środowisko diagnostów, jak również jak ogół społeczeństwa będzie postrzegał zdolność środowiska diagnostów oraz całego środowiska medycznego do przeciwdziałania temu problemowi.

Narzędzie to jest stosowane w ramach Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych od początku 2021 roku poprzez wykorzystywanie przewag asymetrycznych względem pozostałych uczestników otoczenia medycznego w kraju w ramach działań negocjacyjnych oraz wdrożeniowych. Obecnie zaś w ramach Izby trwają prace nad udostępnieniem tego narzędzia szerszemu gronu odbiorców. ●



25-26  
LISTOPADA  
2021  
ON LINE

# 5

## OGÓLNOPOLSKIE FORUM KIEROWNIKÓW MEDYCZNYCH LABORATORIÓW DIAGNOSTYCZNYCH

### Patronaty



NACZELNA IZBA  
PIELĘGNIAREK I POZOSTAŁYCH  
PROFESJONALISTÓW  
ZDROWIA



ki-  
Krajowa Izba  
Pielęgniarek i  
Położniczek



prdl-  
Polskie Towarzystwo  
Diagnostów i  
Laboratoryjnych



### Partnerzy



### Patronat medialny



Najważniejsze wydarzenie  
dla diagnostów laboratoryjnych  
w 2021 roku

# INFORMATOR O UCHWAŁACH ORGANÓW KRAJOWEJ IZBY DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH

**Informujemy, że Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych V Kadencji podjęła następujące uchwały:**

---

## **Posiedzenie XVIII Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 29 lipca 2021 r.:**

1. Uchwała Nr 143/1-P/V/2021 do Nr 143/13-P/V/2021 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 29 lipca 2021 roku w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych.
2. Uchwała Nr 144/V/2021 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 29 lipca 2021 roku w sprawie uchylecia uchwały Nr 142/V/2021 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 29 kwietnia 2021 roku w sprawie zatwierdzenia decyzji Komisji Nagród i Odznaczeń Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych o przyznaniu nagrody pieniężnej za prace magisterskie kierunku analityka medyczna/ medycyna laboratoryjna w ramach konkursów prac magisterskich.
3. Uchwała Nr 145/V/2021 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 29 lipca 2021 roku w sprawie zatwierdzenia decyzji Komisji Nagród i Odznaczeń Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych o przyznaniu nagrody pieniężnej za prace magisterskie kierunku analityka medyczna/ medycyna laboratoryjna w ramach konkursów prac magisterskich oraz dla

najlepszego absolwenta kierunku analityka medyczna/medycyna laboratoryjna.

4. Uchwała Nr 147/V/2021 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 29 lipca 2021 roku w sprawie zmiany Uchwały Nr 30/V/2019 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 2 kwietnia 2019 roku w sprawie powołania Komisji do spraw opracowania rekomendacji dotyczących wymagań fazy przedanalizacyjnej.
5. Uchwała Nr 149/V/2021 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 29 lipca 2021 roku w sprawie deklaracji woli uczestniczenia Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych w Ogólnopolskim Porozumieniu Samorządów Zawodów Zaufania Publicznego.

## **Posiedzenie XVIII**

1. Uchwały Nr 148/V/2021 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 29 lipca 2021 roku w sprawie zmiany Uchwały Nr 57/V/2019 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z 7 czerwca 2019 roku w sprawie powołania Zespołu do spraw opracowania rekomendacji POCT.

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

---

1. Uchwały w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych:
  - od Nr 159/1-P/V/2021 do Nr 159/3-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 26 sierpnia 2021 roku;
  - od Nr 163/1-P/V/2021 do Nr 163/28-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 10 września 2021 roku;

- od Nr 168/1-P/V/2021 do Nr 168/29-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 28 września 2021 roku;
- od Nr 172/1-P/V/2021 do Nr 172/24-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 13 października 2021 roku;
- od Nr 175/1-P/V/2021 do Nr 175/19-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 27 października 2021 roku;

2. Uchwały w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych:
  - od Nr 152/1-P/V/2021 do Nr 152/2-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 28 lipca 2021 roku;
  - od Nr 160/1-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 26 sierpnia 2021 roku;
  - od Nr 156/1-P/V/2021 do Nr 156/3-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 12 sierpnia 2021 roku w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych;
  - od Nr 164/1-P/V/2021 do Nr 164/2-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 10 września 2021 roku w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych;
  - Od Nr 169/1-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 28 września 2021 roku w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych;
  - Od Nr 173/1-P/V/2021 do Nr 173/2-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 13 października 2021 roku w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych;
  - Od Nr 176/1-P/V/2021 do Nr 176/2-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 27 października 2021 roku w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych.
3. Uchwały w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL:
  - od Nr 153/1-P/V/2021 do Nr 153/2-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 28 lipca 2021 roku w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
  - od Nr 162/1-P/V/2021 do Nr 162/2-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 26 sierpnia 2021 roku w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
  - od Nr 166/1-P/V/2021 do Nr 166/5-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 10 września 2021 roku w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
  - od Nr 171/1-P/V/2021 do Nr 171/3-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 28 września 2021 roku w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL.
4. Uchwały Prezydium KRDL z dnia 13 października 2021 roku w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL
  - Uchwały od Nr 174/1-P/V/2021 do Nr 174/3-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 13 października 2021 roku w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
  - Uchwały od Nr 177/1-P/V/2021 do Nr 177/2-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 27 października 2021 roku w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL.
5. Uchwały w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL:
  - od Nr 157/1-P/V/2021 do Nr 157/7-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 12 sierpnia 2021 roku w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
  - od Nr 161/1-P/V/2021 do Nr 161/6-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 26 sierpnia 2021 roku w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
  - od Nr 165/1-P/V/2021 do Nr 165/5-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 10 września 2021 roku w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
  - od Nr 170/1-P/V/2021 do Nr 170/3-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 28 września 2021 roku w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
  - od Nr 178/1-P/V/2021 do Nr 178/4-P/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 27 października 2021 roku w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL.
6. Uchwała Nr 158/V/2021 Prezydium KRDL z dnia 12 sierpnia 2021 roku w sprawie odmowy stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty
7. Uchwała Nr 167/V/2021 Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 10 września 2021 roku w sprawie zabezpieczenia przez Krajową Radę Diagnostów Laboratoryjnych wydatków na cele protestu pracowników ochrony zdrowia.



# PRACA DLA DIAGNOSTY LABORATORYJNEGO



Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych  
zaprasza do przeglądania ogłoszeń  
dotyczących zatrudniania diagnostów  
laboratoryjnych.



Na stronie WWW KIDL

[www.kidl.org.pl](http://www.kidl.org.pl)

- Dam pracę
- Szukam pracy



Zapraszamy do publikowania  
ogłoszeń zarówno pracodawców,  
jak i osoby poszukujące zatrudnienia.

# POMOC DLA DIAGNOSTÓW COVID-19

## PRZEKAŻ DAROWIZNĘ



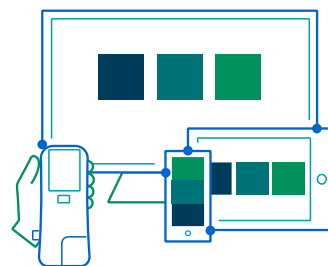
**NR BANKOWY:  
24 1020 1042 0000 8102 0437 3056**

**TYTUŁ:  
DAROWIZNA NA RZECZ  
DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH,  
KTÓRZY PONIEŚLI SZKODY  
W ZWIĄZKU Z ZACHOROWANIEM  
NA COVID-19**



# cobas® infinity POC solution

*Przejmij kontrolę nad POC*



**DIAGNOZA  
PACJENTA  
W TWOICH  
RĘKACH**

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.

ul. Bobrowiecka 8

00-728 Warszawa

tel. +48 22 481 54 54

polska.diagnostics@roche.com

[www.roche.pl](http://www.roche.pl)