DIAGNOSTA laboratoryjny

Rok XVIII nr 4 (61) **grudzień 2020**

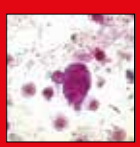
BEZPŁATNA GAZETA KRAJOWEJ IZBY DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH ISSN 2084-1663

ZDROWYCH I SPOKOJNYCH ŚWIĄT





ASPEKTY TESTOWANIA KRWIODAWCÓW W KIERUNKU HIV



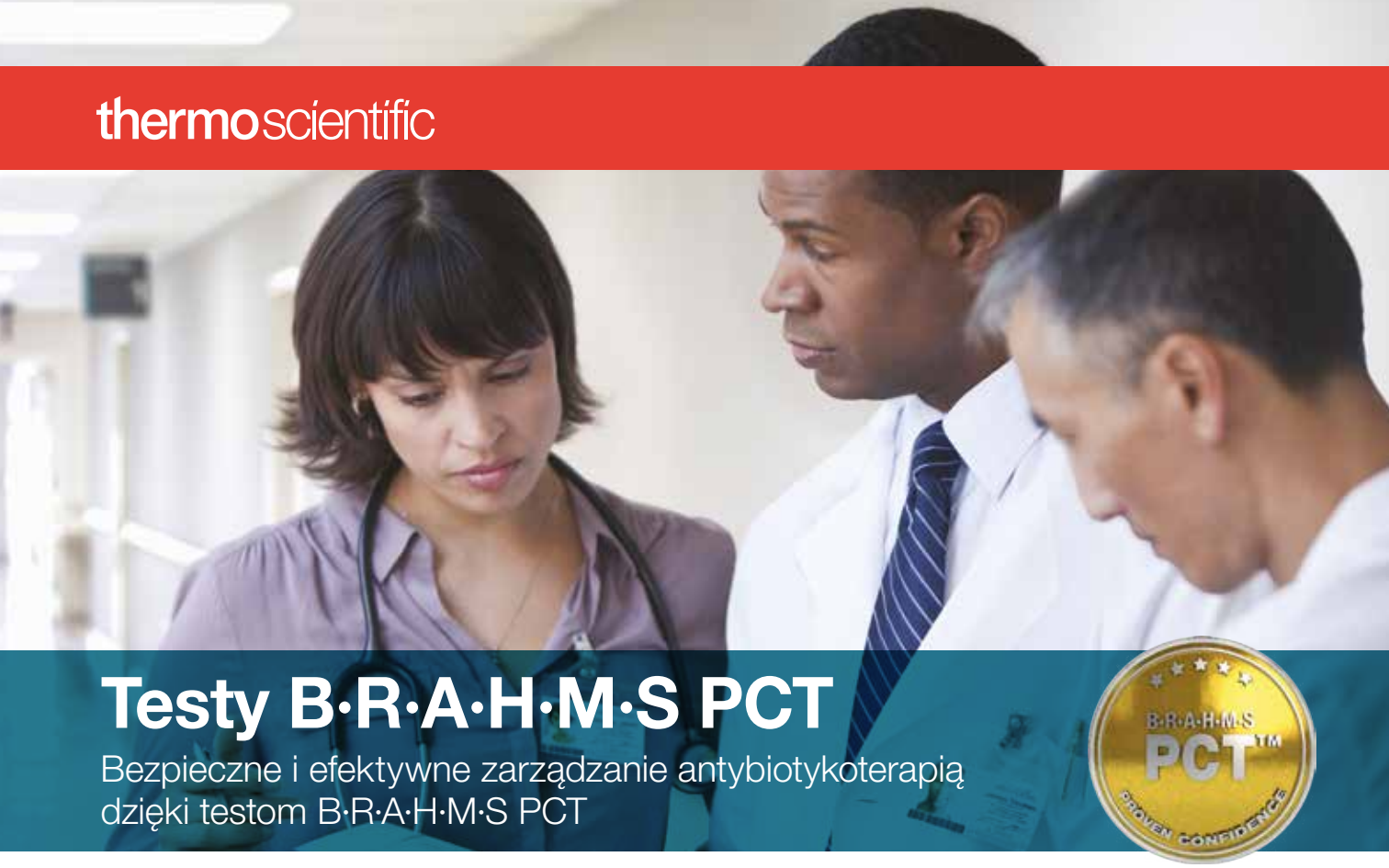
OSAD MOCZU W NEFROPATII WYWOŁANEJ WIRUSEM BK



DIAGNOSTYKA ZAKAŻENIA WIRUSEM SARS-COV-2

OKIEM PRAWNIKA → NAJNOWSZE ZMIANY W PRAWIE W ZWIĄZKU Z EPIDEMIĄ COVID-19

thermo scientific



Testy B·R·A·H·M·S PCT

Bezpieczne i efektywne zarządzanie antybiotykoterapią dzięki testom B·R·A·H·M·S PCT

Thermo Scientific™ B·R·A·H·M·S PCT™ to jedyny* test prokalcytoniny z udowodnioną klinicznie skutecznością zastosowania w podejmowaniu decyzji o rozpoczęciu antybiotykoterapii w przypadku pacjentów z podejrzeniem infekcji lub bezpiecznym zakończeniu antybiotykoterapii w przypadku pacjentów z LRTI (Lower Respiratory Tract Infections) i sepsą. Pozwala na efektywne i pewne zarządzanie antybiotykoterapią.[1,2]

PEWNOŚĆ W PODEJMOWANIU DECYZJI, NIEZALEŻNIE OD ANALIZATORA

thermo scientific B·R·A·H·M·S PCT sensitive KRYPTOR	Abbott ALINITY i B·R·A·H·M·S PCT ARCHITECT B·R·A·H·M·S PCT	bioMérieux VIDAS B·R·A·H·M·S PCT	DiaSorin LIAISON B·R·A·H·M·S PCT II GEN
FUJIREBIO Lumipulse G B·R·A·H·M·S PCT	Ortho Clinical Diagnostics VITROS B·R·A·H·M·S PCT	Roche Elecsys B·R·A·H·M·S PCT	SIEMENS Healthineers ADVIA Centaur B·R·A·H·M·S PCT Atellica IM B·R·A·H·M·S PCT

* Oparte na znanej dostępności rynkowej na dzień 1 Czerwiec 2020 roku

Piśmiennictwo: **1.** Schuetz et al., JAMA 2009; 302: 1059-66 **2.** de Jong et al., Lancet Infect Dis 2016; 3099: 1-9

Dowiedz się więcej na **thermoscientific.com/procalcitonin**

Nie wszystkie produkty są opatrzone znakiem CE lub mają dopuszczenie do sprzedaży w USA zgodnie z 510(k). Dostępność produktów w poszczególnych krajach zależy od lokalnego statusu dopuszczenia do obrotu.

© 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone. Copyrights in and to the image "Doctors going over reports" are owned by a third party and licensed for limited use only to Thermo Fisher Scientific by iStockphoto LP. All rights reserved. B·R·A·H·M·S PCT and all other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. ADVIA Centaur and Atellica IM are registered and protected trademarks belonging to Siemens. ADVIA Centaur B·R·A·H·M·S PCT and Atellica IM B·R·A·H·M·S PCT are products of Siemens licensed from Thermo Fisher Scientific. ALINITY i and ARCHITECT are registered and protected trademarks belonging to Abbott or one of its subsidiaries. ALINITY i and ARCHITECT B·R·A·H·M·S PCT are products of Abbott licensed from Thermo Fisher Scientific. Elecsys is a registered and protected trademark belonging to Roche or one of its subsidiaries. Elecsys B·R·A·H·M·S PCT is a product of Roche licensed from Thermo Fisher Scientific. LIAISON is a registered and protected trademark belonging to DiaSorin S.p.A. LIAISON B·R·A·H·M·S PCT II GEN is a product of DiaSorin S.p.A. licensed from Thermo Fisher Scientific. Lumipulse is a registered trademark of Fujirebio Inc. in Japan and in other countries. Lumipulse G B·R·A·H·M·S PCT is a product of Fujirebio Inc. licensed from Thermo Fisher Scientific. VIDAS is a registered trademark of bioMérieux S.A. or one of its subsidiaries. VIDAS B·R·A·H·M·S PCT is a product of bioMérieux licensed from Thermo Fisher Scientific. KRYPTOR is a trademark of Cisbio Bioassays, licensed for use by B·R·A·H·M·S GmbH, a part of Thermo Fisher Scientific. Patents: www.brahms.de/patents

ThermoFisher SCIENTIFIC



KORONAROK OKIEM PREZESA

2020

Gdy w marcu br. potwierdzono w Polsce pierwszy przypadek zakażenia koronawirusem SARS-CoV-2, nikt nie przypuszczał, że zawód diagnosty laboratoryjnego stanie się jednym z kluczowych zawodów medycznych, a nasze życie zawodowe, społeczne i osobiste tak bardzo się zmieni.

A przecież ten trudny 2020 rok zaczynał się interesująco i optymistycznie. Po raz pierwszy w historii KIDL na Liście 100 najbardziej wpływowych osób w ochronie zdrowia znalazł się Diagnosta Laboratoryjny (62. miejsce dla Prezes KRDL, i to po roku sprawowania funkcji!). Przez chwilę mogliśmy się poczuć docenieni. Jednak z Włoch zaczęły docierać dramatyczne informacje o szalejącej epidemii koronawirusa SARS-CoV-2 i pacjent zero w Polsce. Szybko przyszła niepewność, strach spowodowane przez zmieniające się przepisy, wytyczne, zalecenia, brak rekomendacji i stanowisk, brak środków ochrony osobistej. Zapanował chaos i Izba musiała podjąć wieloobszarowe działania, aby pomóc Państwu zorganizować się w nowej rzeczywistości. Wystąpiliśmy o opinie, stanowiska, analizy do Ministra Zdrowia i Konsultantów Krajowych. Wystosowane zostały stanowiska Prezesa, stanowiska KRDL, apele Prezesów samorządów zawodów medycznych.

Uruchomiliśmy pomoc dla diagnostów w formie telefonicznych dyżurów pomocy prawnej. Porad udzielali prawnicy Zespołu prawnego KIDL. Zorganizowaliśmy też pomoc psychologiczną oraz logistycznie trudną do przeprowadzenia akcję pomocy materialnej. Rozesłaliśmy najbardziej niezbędne środki higieny, w tym kremy do rąk, których tak brakowało w tym czasie.

Diagnosta laboratoryjny stał się kluczowym zawodem medycznym w walce z pandemią. Wcześniej zawód mało znany szerokiej opinii społecznej.

Wystąpiliśmy z apelem do społeczeństwa o wpłacanie środków finansowych na pomoc dla poszkodowanych diagnostów z COVID-19, nastąpił lawinowy wzrost zachorowań. Szczęśliwie na V Zjeździe na mój wniosek Zjazd przyjął uchwałę o utworzeniu funduszu socjalnego. Dzięki temu możemy wesprzeć tych spośród Państwa, który znaleźli się w trudnej sytuacji losowej i finansowej. Nie są może to duże środki, bo fundusz ze względu na liczebność samorządu i wysokość składek nie jest ogromny, ale myślę, że najważniejsza jest zasada solidarności i pomocy wzajemnej. O pomoc można się zwracać przez formularz, który znajduje się na naszej stronie internetowej.

Ze względów epidemicznych i prawnych dostosowaliśmy pracę biura do wymogów pracy zdalnej. Nie byłoby to możliwe gdyby nie modernizacja systemu IT w KIDL w 2019 r. oraz budowa nowej strony internetowej, na które Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych przeznaczyła znaczne środki finansowe. Dzięki tej inwestycji uniknęliśmy paraliżu funkcjonowania Izby w nowych warunkach, choć zdaję sobie sprawę, że nadal występują problemy z komunikacją.

Drodzy Diagności, ta trudność dotyczy zarówno Was, jak i mnie. W czasie „przedcovidowym" przedstawiciele wojewódzcy KRDL mogli przekazać Wam istotne informacje na posiedzeniach PTDL i PTM, a także podczas konferencji organizowanych pod patronatem KIDL. Obecnie wszystkie te działania z wiadomych przyczyn zostały wygaszone. Cała komunikacja spadła na osoby pracujące bezpośrednio w biurze KIDL, czyli na mnie, prawników i administrację biura.Dziękuję osobom funkcyjnym, które zdalnie lub poprzez media społecznościowe włączają się do pomocy w komunikacji z Państwem czy mediami. Staramy się na bieżąco informować Państwa poprzez stronę internetową i FB oraz odpowiadać na Państwa listy.

Prawnicy zespołu prawnego udzielili setek porad prawnych za pośrednictwem środków komunikacji elektronicznej jak i telefonicznie w tym podczas dyżurów. W szczególnie skomplikowanych przypadkach sporządzane były opinie prawne, które trafiły do MZ i były dostrzeżone przez media.

Prawnicy KIDL zabezpieczali też prawne opracowanie uwag do projektu ustawy o medycynie laboratoryjnej, spotykali się z zespołami członków KRDL pracujących w poszczególnych grupach tematycznych tych grup było sześć powołanie ich regulowane było poprzez Komunikat prezesa z dnia 15 lipca 2020 r. wraz załącznikiem – podział na grupy – dostępny na stronie internetowej KIDL.

Prawnicy KIDL uruchomili #dyskryminacja gdzie możecie Państwo zgłaszać wszystkie przejawy noszące znamiona

dyskryminacji czy poczucia nierównego traktowania w pracy jak i systemowo.
Media i nasza w nich obecność to też efekt Państwa ciężkiej pracy w walce z COVID19, ale i codziennej aktywności medialnej KIDL.
W trosce o realizację szkoleń, których dostępność z powodu pandemii jest ograniczona, zorganizowaliśmy bezpłatne szkolenia merytoryczne w formule webinarów w tym z prawa medycznego, które w czasie epidemii COVID zmienia się dynamiczne. Wszystkie cieszą się ogromną popularnością i będą nadal organizowane cyklicznie.
Przejście na komunikację elektroniczną wymagało działań legislacyjnych w Sejmie, które dla dobra wszystkich samorządów medycznych zainicjowała właśnie Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych. Obecnie w tym trybie organizowane są posiedzenia KRDL, Prezydium KRDL i wszystkie spotkania komisji i zespołów KRDL oraz innych organów KIDL, np. Komisji Rewizyjnej.
Działania wewnątrz naszego środowiska to ważna część zadań Izby. Jednak głównym obszarem pracy prezesa KRDL jest reprezentowanie stanowiska diagnostów laboratoryjnych na zewnątrz i zgłaszanie uwag do projektów aktów prawnych w imieniu Rady, które ostatnio zmieniają się bardzo szybko, nawet w ciągu doby, jak np. słynna ustawa covidowa, nie bez racji przez nas nazwana „Kto daje i odbiera"...
Pod koniec lipca przekazany został do konsultacji społecznych projekt Ustawy o medycynie laboratoryjnej. Mieliśmy trzy tygodnie na zgłoszenie uwag. Trudne zadanie, ale daliśmy radę. Przeprowadziliśmy szerokie konsultacje ze środowiskiem, żeby uwzględnić opinie wszystkich zainteresowanych diagnostów, po czym uchwałą KRDL, 150 uwag zostało zgłoszonych do Ministerstwa Zdrowia. Teraz m.in. do Was, jako środowiska, należy przekonywanie posłów i senatorów z Państwa województw do naszych racji. Zachęcam do tego, bo wiem jak ważny i skuteczny jest ten oddolny nacisk.
Od początku epidemii praca samorządu to ciągła walka, wskazywanie błędów legislacyjnych i zgłaszanie uwag do wydawanych projektów ustaw i rozporządzeń. Nieustannie zabiegamy o dostrzeżenie diagnostów w najbardziej newralgicznym obszarze jakim są uposażenia.Wspieramy związki zawodowe w działaniach na rzecz wzrostu wynagrodzeń. Dlatego zdecydowany sprzeciw samorządu wzbudziły zapisy w tzw. pierwszej ustawie covidowej, która marginalizowała rolę diagnostów jako beneficjentów tzw. dodatków covidowych dla zaangażowanych w zwalczanie COVID-19.
Pamiętajmy, że pandemia minie, dodatki wygasną zresztą nie wszyscy je otrzymają. Trzeba podjąć działania w ramach Rady Dialogu Społecznego i nie tylko w przedmiocie wzrostu wynagrodzeń i tutaj właśnie liczymy na efektywne działanie związków zawodowych.Zapewniam o współpracy z KIDL w tym obszarze.

Aktywne działania samorządu w Sejmie, Senacie, MZ i u Premiera przyniosły efekt i w obecnym brzmieniu znowelizowanej ustawy diagności zostali uwzględnieni do otrzymania dodatków.
Bardzo wymowne i pomocne było przemówienie senatora Janusza Pęcherza, który powoływał się w swojej mowie w Senacie na racjonalizm uwag zgłoszonych przez KIDL. Niestety, nowelizacja oczekiwanej przez wszystkie środowiska medyczne ustawy covidowej, która przyznawała dodatki wszystkim zaangażowanym w zwalczanie epidemii, została uchylona. Spotkało się to z ostrą reakcją KRDL oraz Prezesów samorządów zawodów medycznych. W tej sprawie uczestniczyłam w posiedzeniu Senatu, zabrałam też głos na konferencji prasowej zorganizowanej w Senacie w sprawie dodatków dla medyków i publikacji ustawy z 28 października br. Ostatnie obowiązujące akty prawne zawężają bowiem krąg uprawnionych, którym przyznaje się to świadczenie. Sukcesem Izby jest, że przyznano je tym diagnostom, którzy od początku epidemii, pracując w odzieży barierowej i mierząc się z lękiem o zdrowie własne i najbliższych, wykonują badania w kierunku wirusa SARS-CoV-2.







Mając na względzie bezpieczeństwo diagnostów laboratoryjnych, oraz walkę z dyskryminacją, doprowadziliśmy do odstąpienia od części praktycznej egzaminów specjalizacyjnych dla diagnostów analogicznie, jak w przypadku lekarzy. Wymagało to jednak interweniowania w różnych gremiach MZ, CEM, ale też RPO i RPP oraz wielu osobistych rozmów.
Podjęliśmy też wiele interwencji i apeli w sprawie klauzuli „dobrego Samarytanina".
Warto wspomnieć, że trwają prace (we współpracy z MZ) nad nowym wzorem PWZDL, które będzie wydawane od połowy 2021 r. z nowymi zabezpieczeniami. Będzie to karta poliwęglanowa. Uwaga, wydane wcześniej dokumenty zachowają ważność!
Nadal wiele kontrowersji wzbudza ostatnia nowelizowana ustawa, tzw. kadrowa, procedowana w ramach specustawy covidowej. Największy opór budzi (nie dotyczący nas) zapis dopuszczający do zawodu na terenie RP lekarzy i pielęgniarki spoza UE. Są w niej jednak zapisy, które będą miały wpływ na naszą pracę: zmiany przepisów trybu przeszkoleń po przerwie 5-letniej, wpisu do rejestru i przyznawania PWZDL w trybie 14-dniowym. Pilnie się temu przyglądamy i na bieżąco opiniujemy, a także informujemy Państwa o rozwoju sytuacji na naszej stronie internetowej oraz przez FB.
Trzeba przyznać, że MZ w osobie pani Józefy Szczurek-Żelazko, wówczas wiceminister MZ, starało się być w kontakcie z prezesami samorządów zawodów medycznych. Na cyklicznych spotkaniach organizowanych przez Panią Minister zgłaszałam m.in. braki testów i odczynników, drobnego sprzętu, zabezpieczenia szczepionek przeciw grypie dla diagnostów sektora publicznego i niepublicznego, ubezpieczeń, zabezpieczenia kadr (w tym specjalistów), koordynację działań na poziomie Wojewody etc. Zarówno szczepionki, jak i analiza potrzeb sprzętowych i odczynnikowych oraz ich zabezpieczenie było widoczne w reakcjach Ministerstwa Zdrowia, Centralnej Bazy Rezerw czy Agencji Rezerw Materiałowych.
Niestety, wciąż są ponawiane próby wprowadzenia zdalnej autoryzacji, która jest niezgodna tak z wiedzą medyczną, jak i ustawą o diagnostyce laboratoryjnej. Ostatnio MZ argumentował, że takie rozwiązanie zwiększy liczbę badań w kierunku SARS-CoV-2. Publikowane codziennie statystyki pokazują, że tak nie jest. Mamy spadek liczby wykonywanych badań więc to nie argument.Uważam te działania za nękanie samorządu.
Obecnie stoimy przed największym od dekad wyzwaniem, jakim będzie realizacja Narodowego Programu Szczepień przeciwko COVID-19. Uczestnicząc w Zespole ds. Szczepień przy MZ jako kluczowe kadry medyczne wyraziłam gotowość środowiska diagnostów do włączenia się w kampanię propagowania szczepień, a także do innej organizacyjnej i technicznej pomocy, jeżeli taka byłaby potrzebna.
Drodzy Diagności! Za nami trudne, wyczerpujące miesiące. Nasze plany zawodowe i prywatne zweryfikowała pandemia. Odeszło wielu naszych znajomych. Pracujemy w ogromnym stresie. Jednak nie poddawajmy się. Pandemia minie, do czego przyczynia się także Państwa codzienna wytężona praca. Przed nami Nowy Rok, nowe wyzwania, ale i możliwości. Wchodzimy w niego mądrzejsi o wiedzę, jaką zdobyliśmy w tym szczęśliwie już mijającym.

Życzę Państwu i Państwa Najbliższym przede wszystkim zdrowia, a w nadchodzące Święta Bożego Narodzenia spokoju, ale i radości, bo tej Nam bardzo teraz brakuje. Wszystkiego Dobrego w Nowym 2021 Roku!

Alina Niewiadomska
Prezes Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych

Drodzy Czytelnicy,

upływający rok minął pod znakiem nieprzewidywalnych zmian w związku z epidemią SARS-CoV-2. Zmiany te dotknęły każdego z nas jako obywateli ale również jako przedstawicieli medycznego zawodu zaufania publicznego. Nasza praca i rola jaką odgrywamy w systemie ochrony zdrowia została zauważona ale czy doceniona? Mam nadzieję, że dzięki dalszym staraniom naszego Samorządu tak właśnie się stanie, czego nam wszystkim życzę.

W tym numerze polecam Państwa uwadze bogato ilustrowany artykuł dotyczący nefropatii wywołanej wirusem BK. Będziecie mieli również możliwość przeczytania m.in. artykułu omawiającego aspekty testowania krwiodawców w kierunku HIV oraz obszernego tekstu o interleukinie 6. W dziale prawnym polecam opracowanie dotyczące skierowania diagnosty laboratoryjnego do pracy przy zwalczaniu epidemii.

W tym świątecznym czasie chciałbym życzyć Państwu przede wszystkim zdrowia, pogody ducha i niezachwianej nadziei na lepsze jutro. Życzę rodzinnych i spokojnych Świąt Bożego Narodzenia.

Maciej Janiak
Redaktor naczelny „Diagnosty laboratoryjnego”

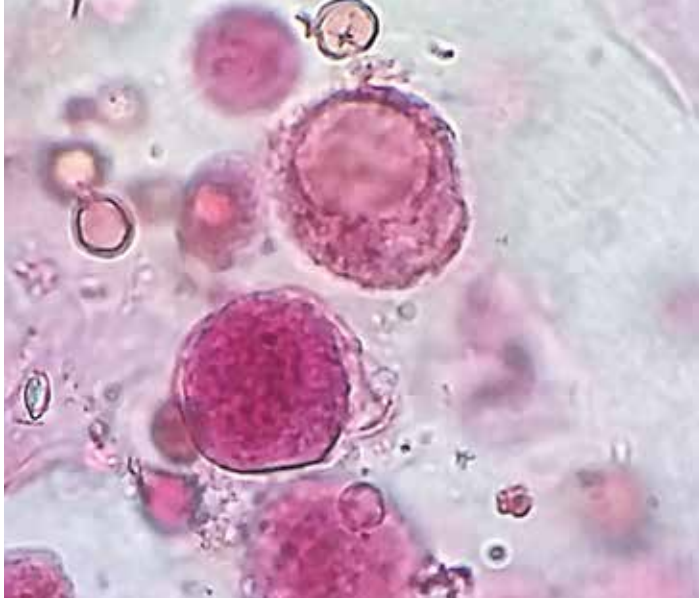


W związku z treścią prawomocnego wyroku Sądu Apelacyjnego w Warszawie, sygn. akt V ACa 392/19 z dnia 26 lutego 2020 r. zamieszczamy oświadczenie:

Ja, niżej podpisana Agnieszka Rzeszotarska oświadczam, że treść podpisanej moim nazwiskiem publikacji *Antygeny zgodności tkankowej i ich implikacje kliniczne*, na którą powołuje się dr Joanna Musiał w artykule *Znaczenie HLA-B27 w diagnostyce zesztywniającego zapalenia stawów kręgosłupa* opublikowanym w czasopiśmie „Diagnosta Laboratoryjny – Gazeta Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych” Rok IX, Nr 1 (22), Marzec 2011, strony 18–20, a także na portalach www.przegladreumatologiczny.pl oraz www.kidl.org.pl. została w przeważającej części zaczerpnięta z książki *Transplantacja szpiku* autorstwa Moniki Sankowskiej i Leszka Kauca oraz książki *Wstęp do immunologii klinicznej* autorstwa Moniki Sankowskiej, bez ich wiedzy i zgody. Przepraszam za naruszenie dóbr osobistych tych osób.

DIAGNOSTA laboratoryjny

W NUMERZE:



SŁOWO PREZESA

3 Koronarok okiem prezesa
Alina Niewiadomska

OKIEM DIAGNOSTY

8 Aspekty testowania krwiodawców w kierunku HIV a współczesne wyzwania i możliwości medycyny
Piotr Antosz, Łukasz Tucki
Według planów strategii Programu Narodów Zjednoczonych ds. Zwalczania HIV/AIDS) do 2020 r. na świecie: 90% osób zakażonych wirusem HIV będzie wiedziało o swoim zakażeniu; 90% pacjentów otrzyma terapię antyretrowirusową (ARV); u 90% pacjentów uzyskana zostanie skuteczność leczenia, czyli poziom wirusa niewykrywalny metodami molekularnymi.

11 Osad moczu w nefropatii wywołanej wirusem BK
mgr Marta Kowal
Zastosowanie silniejszych, skuteczniejszych leków immunosupresyjnych u biorców przeszczepu nerki może być niekiedy przyczyną reaktywacji wirusa BK, co w konsekwencji może prowadzić do nefropatii spowodowanej tym wirusem. Nefropatia ta charakteryzuje się stopniowym pogorszeniem czynności nerki, a w ostateczności utratą przeszczepu.

15 Interleukina 6 – od biologii, przez klinikę, do diagnostyki laboratoryjnej. Jak uniknąć pułapek diagnostycznych u pacjentów z terapeutyczną lub wrodzoną blokadą sygnałowania IL-6?
Karolina Bukowska-Strakova
Oznaczenie poziomu interleukiny 6 (IL-6) do czasu pandemii SARS-Cov-2 było badaniem zlecanym bardzo rzadko. Obecnie oznaczenie to wykonuje się najczęściej w jednotach prowadzących pacjentów z COVID-19. Jednak mimo, iż w większości laboratoriów diagnostycznych nie oznacza się tej cytokiny per se, to jednak warto pogłębić wiedzę na jej temat.

20 Rola diagnosty laboratoryjnego w terapii monitorowanej stężeniem leku
n. farm. Paweł K. Kunicki
Skuteczne prowadzenie terapii monitorowanej stężeniem leku (TDM) wymaga współdziałania trzech podmiotów: lekarza prowadzącego, diagnosty laboratoryjnego i pacjenta. W modelowym zespole terapeutycznym przewidziano także miejsce dla farmaceuty klinicznego wspierającego lekarza.

24 Diagnostyka zakażenia wirusem SARS-COV-2. Aktualny stan wiedzy oraz perspektywy rozwoju
Paweł Zmora, Elżbieta Lenartowicz
Gwałtowne rozprzestrzenianie się wirusa SARS-CoV-2 dotknęło prawie wszystkie kraje na świecie. Ze względu na niecharakterystyczne symptomy zakażenia, które spotykane są w wielu innych jednostkach chorobowych, w celu diagnozy niezbędne jest wykonanie dodatkowych testów laboratoryjnych. Od czasu rozpoczęcia pandemii COVID-19, w Polsce wykonano ponad 6,5 miliona testów.

OKIEM PRAWNIKA

30 Skierowanie diagnosty laboratoryjnego do pracy przy zwalczaniu epidemii
r.pr. Jarosław Kamiński

32 Najnowsze zmiany w prawie w związku z epidemią COVID-19
dr n. prawn. Maciej Niezabitowski
Epidemia wirusa SARS-CoV-2 zaskoczyła rządzących. Nieprzygotowanie do zaistniałej sytuacji, wymusiło szybkie wprowadzanie szeregu nowych rozwiązań prawnych, które mają zabezpieczyć prawidłowość funkcjonowania podmiotów w różnych dziedzinach życia publicznego. W tym obszaru systemu ochrony zdrowia. Przepisy wprowadzane są na szybko, a ich sposób procedowania wzbudza liczne kontrowersje. Skutki takiego postępowania będziemy odczuwać wszyscy przez wiele lat, ale to już temat na odrębny artykuł. Poniżej przedstawiam Państwu niektóre z rozwiązań mających bezpośredni związek z wykonywaniem zawodu diagnosty laboratoryjnego, które pojawiły się w ostatnim czasie.

OKIEM ZWIĄZKOWCA

36 Oklaski to za mało
Łukasz Tucki
Pandemia COVID-19 coraz bardziej podkreśla smutny obraz rzeczywistości ochrony zdrowia w Polsce. Poza oczywistymi skutkami, jakimi są powikłania po przechorowaniu choroby, ciągle rośnie liczba zgonów z powodu zakażenia wirusem SARS-CoV-2, piętrzą się problemy z uzyskaniem pomocy medycznej zarówno w przypadku osób zakażonych, jak również osób oczekujących na wizytę u specjalistów.

INFORMATOR DIAGNOSTY

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



Piotr Antosz
Szpital Wojewódzki nr 1 w Rzeszowie, Kliniczny Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej – Pracownia Serologii z Bankiem Krwi



Łukasz Tucki
Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi, Dział Zapewnienia Jakości
e-mail: lukasz.tucki@gmail.com

ASPEKTY TESTOWANIA KRWIODAWCÓW W KIERUNKU HIV A WSPÓŁCZESNE WYZWANIA I MOŻLIWOŚCI MEDYCYNY



Według planów strategii UNAIDS (Program Narodów Zjednoczonych ds. Zwalczania HIV/AIDS) do 2020 roku na całym świecie:

- 90% osób zakażonych wirusem HIV będzie wiedziało o swoim zakażeniu,
- 90% pacjentów otrzyma terapię antyretrowirusową (ARV),
- u 90% pacjentów uzyskana zostanie skuteczność leczenia, czyli poziom wirusa niewykrywalny metodami molekularnymi.

Celem leczenia antyretrowirusowego jest zatrzymanie replikacji wirusa, a przez to ochrona systemu immunologicznego pacjenta. Istotnym celem jest również ochrona partnera seksualnego, U=U (Undetectable = Untrasmittable, czyli Niewykrywalny = Niezakaźny).

1. Testowanie

W Polsce test w kierunku HIV anonimowo, bezpłatnie i z poradnictwem można wykonać w jednym z wybranych punktów konsultacyjno-diagnostycznych (PKD). Zaletą tego modelu testowania jest fachowa pomoc doradców okołotestowych, których zadaniem jest wyjaśnienie całego procesu testowania, zbadanie rzeczywistej potrzeby wykonania testu oraz rozwianie ewentualnych wątpliwości. Model testowania jest dwuetapowy – najpierw wykonywany jest test przesiewowy (III lub IV generacji) wykrywający przeciwciała anty-HIV. W przypadku dodatniego wyniku testu próbka krwi jest badana testem potwierdzenia (Western Blot). Wynik dodatni jest przekazywany osobom wraz z informacją o tym, co oznacza on dla zdrowia osoby testującej się i gdzie ta osoba może rozpocząć leczenie antyretrowirusowe. Wadą testowania w PKD jest ich dostępność – PKD najczęściej działają w dużych miastach, w ograniczonym porach funkcjonowania, a przez to niestety nie mogą być powszechnym źródłem informacji o zakażeniu HIV lub jego braku. Największą zaletą oprócz samego faktu testowania jest ich rola edukacyjna dotycząca HIV i innych chorób przenoszonych drogą płciową. Niektóre PKD wykonują również testy w kierunku kiły i HCV.

Aktualna lista PKD dostępna jest na stronie:

https://aids.gov.pl/pkd/

Poza PKD test można wykonać komercyjnie i nieanonimowo w laboratoriach diagnostycznych w publicznych i niepublicznych placówkach medycznych. W niektórych aptekach dostępne są również testy, które można zamówić przez internet, a ostatnio jedna z organizacji w Warszawie umożliwia domowy szybki test na HIV, połączony z konsultacją telefoniczną. Istnieje również zjawisko testowania w klubach lub w check-pointach.

Najwięcej testów w kierunku HIV w Polsce wykonuje się jednak w Centrach Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (CKiK). Każdy dawca zarówno pierwszorazowy jak i wielokrotny przy każdej donacji ma wykonane oznaczenie w kierunku obecności markera wirusa HIV metodą serologiczną i technikami biologii molekularnej.



Podkreślić należy, że krwiodawstwo w Polsce jest honorowe i nieodpłatne i nie powinno być źródłem informacji o zakażeniu, zwłaszcza po ryzykownych kontaktach seksualnych i ewentualnej ekspozycji na wirusa HIV.

Niestety – co pokazują statystyki z ostatnich lat – liczba zakażeń HIV wykrytych u krwiodawców wzrasta. Dotyczy to zarówno dawców pierwszorazowych, jak również dawców wielokrotnych. Średnio 50–60 przypadków z ok. 1000 nowych zakażeń HIV rocznie rejestrowanych w Polsce (co stanowi ok. 5%) wykrywane jest w CKiK.

W latach 2005–2015 skumulowana częstość zakażeń seropozytywnych (w przeliczeniu na 100 000 dawców) wynosiła 6,77. W ciągu 11 lat zidentyfikowano łącznie 449 zakażeń, w tym 434 seropozytywnych (96,6%) i 15 seronegatywnych (3,4%). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że co prawda częstość zakażeń u dawców pierwszorazowych była większa niż u wielokrotnych (ryzyko względne – RR 1,3; 95% CI: 1,1–1,6; p <0,05), jednak różnice te były dużo mniejsze niż w przypadku HBV czy HCV. Zakażenia były także wielokrotnie częstsze wśród mężczyzn niż kobiet (RR 3,7; 95% CI 2,7–5,2; p <0,05). Najwyższą częstość zakażeń odnotowano w grupach wiekowych 21–30 (9,3) i 31–40 lat (8,7), a najniższą <20 (3) i >60 lat (0).

Na tle innych krajów Europy Polska należy do krajów o niskiej zapadalności. Od wdrożenia badań w 1985 r. do 30 września 2019 r. stwierdzono zakażenie HIV u 25 020 obywateli Polski i u osób innego obywatelstwa przebywających na terenie Polski. Ogółem odnotowano 3741 zachorowań na AIDS; 1424 chorych zmarło.

Niestety, według licznych publikacji, wykrywalność zakażeń jest niedoszacowana. Nawet połowa osób zakażonych HIV może nie zdawać sobie z tego sprawy. Częstość zakażeń wśród dawców krwi jest wyższa niż w krajach europejskich i USA. Wytłumaczeniem tego zjawiska jest mała dostępność testów na HIV poza systemem krwiodawstwa. Sprzyja to występowaniu zjawiska tzw. test seekers wśród dawców w naszym kraju – czyli osób, których główną motywacją jest uzyskanie wyników badań przeglądowych krwi, w tym HIV, HCV, HBV i kiły. Na dowód występowania tego zjawiska wskazują relatywnie wysokie częstości zakażeń HIV wśród dawców wielokrotnych, zakażenia w tzw. okienku serologicznym oraz z wynikami reaktywnymi testu przeglądowego anty-HIV, dodatnich w badaniu RNA HIV lecz negatywnych w teście Western Blot. Donacje krwi od dawców wielokrotnych powinny być istotnie bezpieczniejsze, ze względu na większy stopień świadomości dawców i edukację podczas każdej wizyty w RCKiK przez personel medyczny. Mniejsze prawdopodobieństwo zakażeń w tej grupie i tym samym ryzyko przeniesienia przez transfuzję obserwowane jest w przypadku HBV, HCV, ale nie HIV. W przypadku osób, u których wykryto zakażenie jeszcze przed pojawieniem się przeciwciał, niepokojący jest fakt braku zgłoszenia ryzykownej sytuacji lub zachowania, które w większości przypadków miały miejsce w okresie krótko poprzedzającym donację. Niestety wciąż niewiele wiadomo o test seekers w Polsce. Dane z Sao Paulo wskazują, że aż 18% dawców oddaje krew, by otrzymać wyniki badań krwi, a aż 62% dawców wskazuje, że nigdy wcześniej przed donacją nie miała wykonanego testu w kierunku HIV. Być może jest to właściwy moment by zbadać to zjawisko w Polsce.

Rosnący trend wykrywanych zakażeń HIV w Polsce wskazuje na zwiększoną w populacji częstość ryzykownych kontaktów seksualnych, w tym w populacji ludzi młodych, na których w głównej mierze krwiodawstwo w Polsce się opiera. Należy jednak podkreślić że dane z nadzoru epidemiologicznego w Polsce są niepełne – przypadki zakażenia HIV w 2018 (1275) według prawdopodobnej drogi transmisji:

– kontakty homoseksualne: 310 (24%)
– kontakty heteroseksualne: 69 (5%)
– stosowanie narkotyków dożylnie: 25 (2%)
– zakażenia wertykalne (matka-dziecko):2 (0,15%)
– zakażenia jatrogenne: 2 (0,15%)
– **inne/brak danych: 867 (68%)**

Trend wzrostu liczby zakażeń HIV z roku na rok jest niestety coraz większy.

Znajduje to odzwierciedlenie w analizie ponad 100 ankiet epidemiologicznych wypełnionych przez dawców zakażonych HIV, które wskazują, że dominującą prawdopodobną drogą przenoszenia zakażeń w Polsce były kontakty seksualne (64%, n = 66), w tym kontakty homoseksualne wskazało 61% (n = 40) ankietowanych.

Jak zwiększyć bezpieczeństwo biorców krwi?

Oprócz obecnie stosowanych procedur możliwe jest:

– zapoznawanie dawców z informacjami dotyczącymi dróg przenoszenia zakażenia, zachowań i sytuacji, które niosą ze sobą ryzyko zakażenia wirusami przenoszonymi drogą krwiopochodną,
– wypełnienie kwestionariusza, który zawiera kluczowe pytania w kontekście stałej lub tymczasowej dyskwalifikacji oddania krwi – w tym związane z przetoczeniem krwi, kontaktem śluzówki z obcą krwią lub zakłuciem (np. personel medyczny, policjanci), zabiegiem chirurgicznym, wykonaniem tatuażu lub przekłuciem części ciała, podróżami do krajów o wysokiej zapadalności na zakażenia HIV (Afryka Środkowa i Zachodnia, Tajlandia), kontakty seksualne dawcy lub jego partnerki/partnera,
– wywiad lekarski i badanie przedmiotowe, podczas którego lekarz wyklucza nieswoiste objawy zakażenia HIV (powiększone węzły chłonne, dysproporcja wzrost/waga, podwyższona temperatura ciała) i dyskwalifikuje z powodu nieadekwatnego zachowania kandydata na dawcę – co może sugerować bycie pod wpływem substancji psychoaktywnych lub zbyt duży stres przed donacją,
– stosowane badania przeglądowe krwi – przeciwciała przeciw wirusowi (anty-HIV1/2) oraz materiał genetyczny wirusa (RNA HIV), jak również badania weryfikujące (testy potwierdzenia).

Dodatkowo zakaźność HIV maleje podczas przechowywania składników krwi w niskich temperaturach, stosowanie metody karencjonowania osocza, a od niedawna również metody inaktywacji osocza świeżo mrożonego i koncentratu krwinek płytkowych.

Najważniejsza jednak wydaje się samoświadomość samego dawcy krwi. Podczas każdej wizyty dawcy w CKiK należy podkreślać fakt, iż mimo wysoce rozwiniętych metod diagnostycznych istnieje prawdopodobieństwo przeniesienia zakażenia drogą transfuzji w momencie okienka serologicznego (w ciągu kilkudziesięciu godzin zaraz po zakażeniu) lub zakażenie zmutowanym wirusem HIV niewykrywalnym przez obecnie stosowane w CKiK testy laboratoryjne (niska wiremia). Najważniejsze jest bezpieczeństwo krwi dla biorcy – dlatego osoby o ryzykownych zachowaniach seksualnych, włączając:

- kontakty seksualne z wieloma partnerami/partnerkami,
- kontakty seksualne w celu zarobkowym,
- kontakty seksualne z osobami stosującymi narkotyki w postaci zastrzyków,
- wcześniej lub aktualnie stosowane narkotyki w postaci zastrzyków,
- kontakty seksualne z osobami, u których testy w kierunku AIDS, kiły czy żółtaczki zakaźnej B lub C wypadły dodatnio,
- kontakty seksualne z partnerem/partnerką, niedawno poznanymi, w tym kontakty bez zabezpieczenia prezerwatywą,

powinny zrezygnować z oddawania krwi. Osobom wyżej wymienionym można zaproponować testowanie w PKD, zwracając uwagę na ryzyko przeniesienia zakażenia. Jedna donacja oddanej krwi pełnej to aż 3 potencjalne zakażenia biorców składników krwi z tej donacji.

2. PrEP a krwiodawstwo

Stosunkowo nowym zjawiskiem w Polsce jest profilaktyka przedekspozycyjna HIV. PrEP (ang. *pre-exposure prophylaxis*) to stosowanie leków antyretrowirusowych u osób niezakażonych HIV w celu zmniejszenia ryzyka nabycia tego zakażenia. Profilaktyka przedekspozycyjna cechuje się wysoką skutecznością i powinna być stosowana w skojarzeniu z szeroką i regularną diagnostyką przesiewową HIV, wczesnym leczeniem wszystkich zakażonych HIV, szeroką diagnostyką i terapią innych zakażeń przenoszonych drogą płciową, a także promocją profilaktyki barierowej i innych metod redukcji szkód. Takie skojarzone działania, uwzględniające PrEP, stanowią jedyny sposób zmniejszenia liczby nowych zakażeń u osób które:

- mają kontakty seksualne bez prezerwatywy z osobami potencjalnie zakażonymi HIV (osoby o nieznanym statusem serologicznym, osoby HIV(+) z wykrywalną wiremią),
- stosowały profilaktykę poekspozycyjną (PrEP) po kontakcie seksualnym w ciągu ostatniego roku,
- chorowały na choroby przenoszone drogą kontaktów seksualnych w ciągu ostatniego roku,
- mają kontakty seksualne pod wpływem substancji psychoaktywnych,
- używają narkotyków dożylnie,
- świadczą usługi seksualne.

Jak to wygląda w praktyce?

Terapia PrEP polega na przyjmowaniu tabletek, które zawierają dwa leki: tenofowir oraz emtrycytabinę. Można je przyjmować regularnie każdego dnia o stałej porze lub doraźnie w określonych godzinach przed i po ryzykownym stosunku bądź innej czynności mogącej narazić nas na zakażenie wirusem. W niektórych krajach, jak np. Francji, Norwegii lub Australii, tabletki są całkowicie refundowane. W Polsce od grudnia 2017 płatność za nie wynosi około 120 zł miesięcznie. Warto również zwrócić uwagę na to, iż terapia PrEP chroni TYLKO przed transmisją wirusa HIV i rekomendowane jest równoczesne stosowanie prezerwatyw w celu ochrony przed innymi chorobami przenoszonymi drogą płciową. Według wyliczeń opublikowanych w tygodniku „Lancet" terapia przedekspozycyjna pozwala zmniejszyć liczbę nowych zakażeń nawet o 40% i może być skutecznym orężem w walce z ludzkim wirusem upośledzenia odporności. Badania kliniczne dotyczące bezpieczeństwa terapii PrEP nie wykazały poważnych działań niepożądanych. U części pacjentów obserwowano nudności oraz utratę apetytu, które ustępowały po miesiącu. Niektórzy badani skarżyli się na bóle głowy o niewielkim nasileniu.

Osoby te stosują leki antyretrowirusowe aby zabezpieczyć się przed zakażeniem HIV. Jak można podejrzewać, osoby takie mogą być potencjalnymi krwiodawcami. Wiązać się to może z negatywnymi następstwami dla oddawanej krwi, stąd, ze względu na przyjmowane leki i ryzykowne kontakty seksualne, osoby takie powinny być dyskwalifikowane z czynnego krwiodawstwa.

Podkreślić należy jednak, że PrEP sam w sobie może przyczynić się do ograniczenia nowych zakażeń HIV w Polsce, zwłaszcza w wyżej wymienionych grupach osób. Niestety ograniczenia jego stosowania wynikają z małej liczby poradni i z całkowitej odpłatności za leki, wizyty lekarskie i testy laboratoryjne.

3. Podsumowanie

Jak wskazują eksperci, największym wyzwaniem w zwalczaniu epidemii HIV w Polsce nadal niestety jest problem testowania. Dlatego niezwykle istotne jest edukowanie przez personel medyczny, w tym środowisko diagnostów laboratoryjnych, o potrzebie wykonania testu na HIV u każdej osoby, która miała kiedykolwiek ryzykowny kontakt seksualny lub przyjmuje środki psychoaktywne drogą dożylną. Autorzy podkreślają znaczenie świadomości krwiodawców, gdyż w Polsce stanowią oni największą grupę osób badaną w kierunku HIV. To od nich i od przestrzegania rygorystycznych procedur w CKiK zależy bezpieczeństwo krwi niezbędnej w lecznictwie szpitalnym.

Zgromadzone dotychczas wyniki badań wskazują, że w środowiskach o wysokim ryzyku zakażenia wirusem HIV stosowanie PrEP może być metodą znacząco obniżającą ryzyko transmisji ludzkim wirusem niedoboru odporności. ●

Piśmiennictwo dostępne u autorów



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

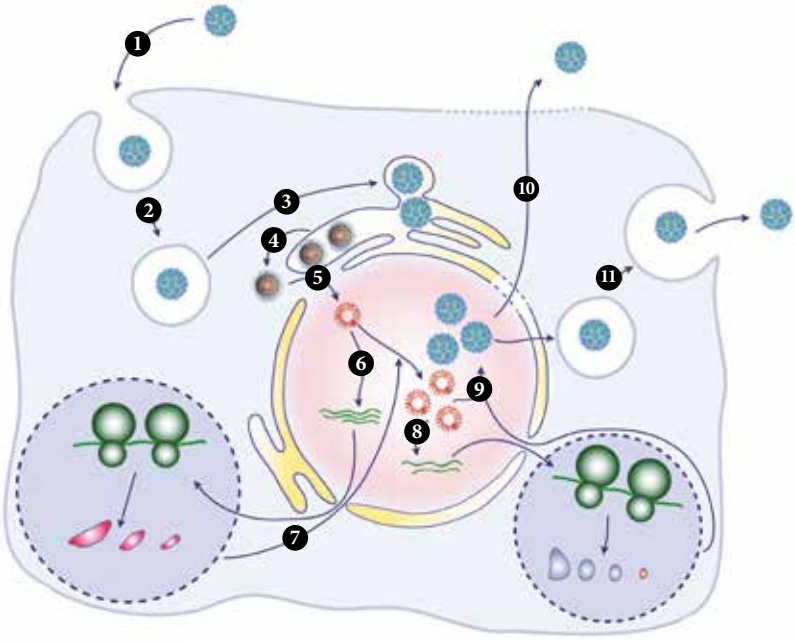
OSAD MOCZU W NEFROPATII WYWOŁANEJ WIRUSEM BK

Zastosowanie silniejszych, skuteczniejszych leków immunosupresyjnych u biorców przeszczepu nerki może być niekiedy przyczyną reaktywacji wirusa BK, co w konsekwencji może prowadzić do nefropatii spowodowanej tym wirusem. Nefropatia ta charakteryzuje się stopniowym pogorszeniem czynności nerki a w ostateczności utratą przeszczepu. Podczas wczesnej reaktywacji u pacjentów rozwija się wiruria, której towarzyszy pojawienie się komórek nabłonkowych z charakterystycznymi zmianami wywołanymi wtargnięciem wirusa tzw. „decoy cells" [1]. W artykule opisane są typy morfologiczne oraz znaczenie diagnostyczne tych komórek.

Wirus BK (BKV)

Wirus BK (BKV) został po raz pierwszy opisany w 1970 r. przez Gardnera i współpracowników, ale dopiero w połowie lat 90. XX w. powiązano go z nefropatią u biorców przeszczepu nerki. Wirus nazwano inicjałami pacjenta, u którego został po raz pierwszy wyizolowany. Gardner wykrył BKV w moczu pacjenta z przeszczepem nerki cierpiącego na zwężenie moczowodu. BKV zaliczany jest do rodziny *Polyomaviridae* i rodzaju *Polyomavirus*. Jest to mały wirus bez otoczki o średnicy 40–45 nm. Kapsyd ma kształt dwudziestościanu foremnego, genom stanowi dwuniciowy DNA zawierający około 5000 par zasad. Układ moczowy stanowi główne i docelowe miejsce osiedlenia się wirusa. Proces ten najczęściej odbywa się w komórkach nabłonkowych kanalików nerkowych, moczowodów lub miedniczek nerkowych (Ryc. 1).

Pacjenci początkowo nabywają infekcję BKV w dzieciństwie i rozwijają przejściową wiremię z objawami podobnymi do przeziębienia, po czym ustala się przewlekła infekcja układu moczowego, często bezobjawowa, a wirus staje się utajony w tkankach urotelialnych. U około 80–90 % dorosłych ludzi można wykryć przeciwciała przeciwko poliomawirusom [2, 3].



Ryc. 1. Schemat cyklu życiowego wirusa BK
(wg Journals Viruses Volume 9 Issue 11 10.3390/v9110327)

1. Przylgniecie cząsteczki wirusa do powierzchni komórki poprzez receptory powierzchniowe
2. Internalizacja w procesie endocytozy
3. Przeniesienie się wirusa do retikulum endoplazmatycznego
4. Usuwanie kapsydu i uwalnianie nagich wirusów do cytozolu
5. Genom wirusa z cytozolu dostaje się do jądra poprzez pory jądrowe

6–9. Procesy transkrypcji genów wirusa i translacji białek prowadzące do powstania wirusów potomnych

10–11. Wiriony potomne opuszczają komórkę w wyniku egzocytozy lub lizy zainfekowanej komórki.

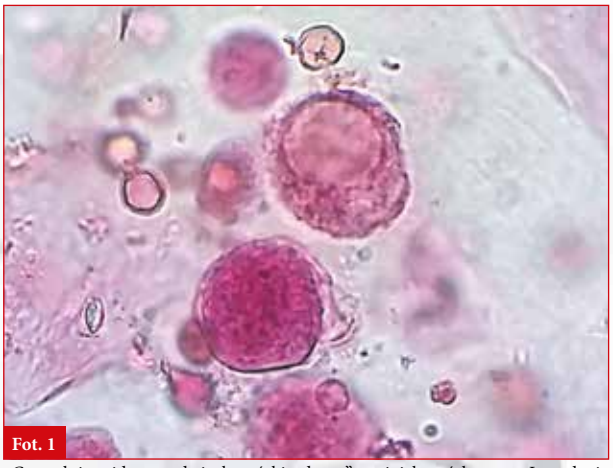
Nefropatia wywołana wirusem BK (BKVN)

U osób z prawidłową immunokompetencją zakażenie BKV jest utajone i rzadko powoduje chorobę. Inaczej jednak rzecz ma się z biorcami nerki, którzy są poddawani leczeniu immunosupresyjnemu i którzy reaktywowali zakażenie wirusem BK z powodu tej immunosupresji. Początkowo, podczas wczesnej reaktywacji BKV u pacjentów rozwija się wiruria BK, w której wirus występuje tylko w moczu. Kiedy infekcja wstępuje do kory przeszczepionej nerki, prowadzi to do nefropatii. Proces chorobowy jest powodowany zajęciem miąższu nerki przez wirusa BK i charakteryzuje się postępującym pogorszeniem funkcji nerki w wyniku martwicy kanalików nerkowych spowodowanej działaniem cytopatycznym wirusa. W ostateczności może nastąpić utrata przeszczepu. Nefropatia wywołana tym wirusem (BKVN) występuje częściej w ostatnich latach w wyniku stosowania nowszych i skuteczniejszych leków immunosupresyjnych. Spotykana jest nawet u około 10 % biorców i wiąże się z utratą przeszczepu u około 46%, najczęściej w ciągu pierwszych 6–18 miesięcy po operacji [1]. Nagromadzenie wirionów powoduje uszkodzenia zainfekowanych komórek w różnym stopniu, aż do ich martwicy. Liza zainfekowanych komórek powoduje masowe przedostawanie się wirionów do światła kanalika i infekowanie kolejnych komórek nabłonka wyścielającego kanaliki. Obecność wirusa nadaje zainfekowanej komórce nabłonkowej charakterystyczny wygląd.

W szczególności jądro komórki zmienia się w zależności od etapu infekcji. Takie zmienione pod wpływem wirusa komórki nazywa się decoy cells (DC).

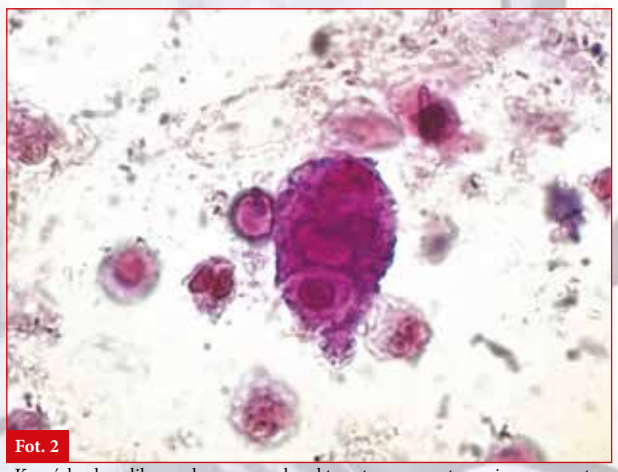
Decoy cells (DC)

Komórki „decoy" są jednym z wczesnych znaków reaktywacji BKV i można je znaleźć w osadzie moczu stosując różne metody. DC charakteryzują się następującymi cechami morfologicznymi: kształt okrągły lub owalny, duże jądro, wysoki stosunek jądra do cytoplazmy, nieregularnie pogrubiona błona jądrowa, jądro zawiera ziarnistą lub homogeniczną amorficzną chromatynę, niekiedy obecne są inkluzje wewnątrzjądrowe, jądro zepchnięte na obrzeże i cytoplazma wyciągnięta biegunowo powoduje „kometowaty" wygląd komórki. W literaturze zostały opisane cztery morfologiczne typy tych komórek [1, 4]. Typ I – komórka okrągła lub owalna zawierająca duże jądro najczęściej położone mimośrodowo. Jądro tej komórki posiada nieregularnie pogrubioną błonę jądrową, a chromatyna jądrowa jest homogeniczna i amorficzna, przypominająca zmatowione szkło. Niekiedy obecne są wewnątrzjądrowe okrągłe ciałka inkluzyjne (Fot. 1). Typ II – komórka często owalna, wewnątrz jądra obecne duże jednorodne wtrącenie otoczone przezroczystą aureolą tzw. „halo" (podobnie jak w komórkach zainfekowanych wirusem cytomegalii) nadające komórce wygląd „ptasiego oka" (Fot. 2). Typ III – komórka z ziarnistą chromatyną przypominająca wyglądem zmielone szkło (Fot. 3 i 4). Typ IV – komórka



Fot. 1

Centralnie widoczne dwie komórki „decoy", wyżej komórka typu I, pod nią typu III (ziarniste jądro wypełnia całą komórkę). Osad barwiony metodą Sternheimera-Malbina, mikroskop świetlny, powiększenie 1000 x.



Fot. 2

Komórka kanalika nerkowego z charakterystycznym wtrąceniem wewnątrzjądrowym otoczonym „halo", w tle rozpadające się neutrofile i pojedyncze erytrocyty. Osad barwiony metodą Sternheimera-Malbina, mikroskop świetlny, powiększenie 1000 x.



Fot. 3

Duże jądro z ziarnistą chromatyną I wyraźną błoną jądrową „opuszcza" komórkę. Cytplazma wyciągnięta biegunowo nadaje wygląd „komety". Preparat niebarwiony, mikroskop świetlny, pow. 600 x.



Fot. 4

Komórka „decoy" typu III. Barwienie Sternheimera-Malbina, mikroskop świetlny pow. 1000 x.



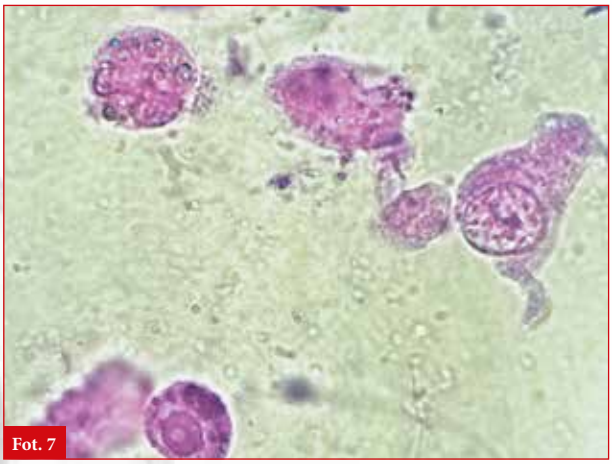
Fot. 5

Komórka „decoy" typu IV posiadająca duże jądro z jąderkiem oraz nieregularnie pogrubioną błoną jądrową. Preparat niebarwiony, mikroskop świetlny pow. 1000 x.



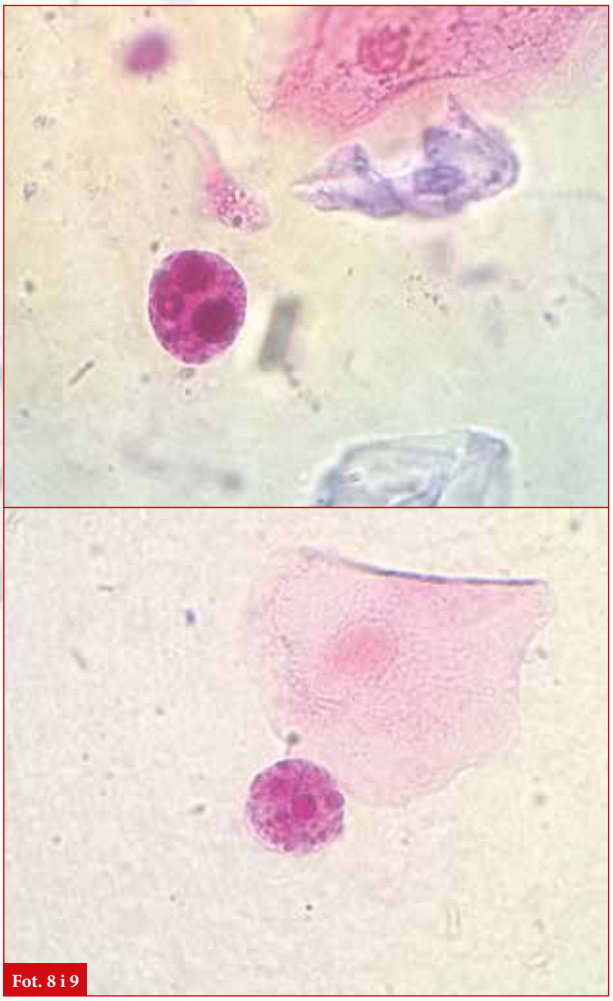
Fot. 6

Komórka z wyraźnym jąderkiem w jądrze i ziarnistą chromatyną, w cytoplazmie widoczne ciałko inkluzyjne. Barwienie Sternheimera-Malbina, mikroskop świetlny, pow. 1000 x.



Fot. 7

Widoczne trzy komórki "decoy" a) typ III tzw. "nagie" jądro z ziarnistą chromatyną wypełniające całą komórkę, b) komórka z ziarnistą chromatyną, wyraźną błoną jądrową I dość bogatą cytoplazmą c) komórka z dużym jądrem wokół którego widoczne jest "halo".Barwienie Sternheimera-Malbina, mikroskop świetlny, pow. 400 x.



Fot. 8 i 9

Powyżej rzadko spotykana dwujądrowa komórka „decoy", poniżej makrofag. Obydwie komórki znaleziono w osadzie moczu tego samego pacjenta. Komórki o podobnej wielkości ale o różnym stosunku jądra do cytoplazmy. Preparat barwiony metodą Sternheimera-Malbina, mikroskop świetlny, pow. 400 x.

z jądrem pęcherzykowatym i z jednym lub kilkoma jąderkami, chromatyna przeważnie ziarnista (Fot. 5 i 6). Należy dodać, że DC wykazujące różne typy morfologiczne mogą być znajdowane w moczu tego samego pacjenta (Fot. 7), a komórkom tym towarzyszą zwykle erytrocyty, komórki kanalików nerkowych a także dość często makrofagi, które mogą niekiedy być trudne do odróżnienia od komórek zainfekowanych wirusem [5] (Fot. 8 i 9)

Diagnostyka

Złotym standardem diagnostycznym dla wirusowego śródmiąższowego zapalenia nerek jest biopsja nerek. Natomiast pomiar wirurii lub wiremii w reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) dla DNA wirusa BK są powszechnymi narzędziami przesiewowymi.
Istnieją także badania wskazujące, że pomiar liczby komórek „decoy" w osadzie moczu może być przydatną metodą do badań przesiewowych i monitorowania zakażenia BKV u biorców przeszczepu nerki [6]. Wzrost liczby DC może stanowić parametr służący do oceny ryzyka wystąpienia nefropatii wywołanej wirusem BK. Najczęściej stosowaną metodą dla określenia liczby DC jest cytologia moczu z zastosowaniem barwienia Papanicoloau. Niekiedy stosuje się inne barwienia, np. barwienie Wrighta, McWilliama-Giemsy i barwienie Sternheimera-Malbina [6]. Komórki „decoy" można również wykryć w niewybarwionym osadzie moczu za pomocą mikroskopii kontrastowo-fazowej [15]. Czułość i swoistość komórek „decoy" do diagnozowania BKVN u biorców przeszczepu nerek wynosi odpowiednio 99% i 95%, dodatnia wartość predykcyjna waha się od 27% do ponad 90%, a ujemna wartość predykcyjna wynosi 99% [1]. Wykrywanie komórek „decoy" porównuje się z wynikami innych badań mającymi zastosowanie do oceny aktywacji poliomawirusów w moczu – głównie z PCR.

Podsumowanie

U osób z prawidłową odpornością BKV pozostaje utajony w komórkach urotelium i reaktywuje się u niewielkiej liczby osób bez konsekwencji klinicznych. Jednak po przeszczepie nerki nefropatia związana z tym wirusem rozwija się u 1–10% biorców, powodując utratę przeszczepu nawet do 80% przypadków [8]. Regularne badania moczu w kierunku BKV po przeszczepie nerki powinny być wykonywane najlepiej ilościową metodą PCR. Tanią przesiewową metodą może być cytologia osadu moczu. Pomiar liczby komórek „decoy" w próbce osadu moczu może być przeprowadzony stosunkowo łatwo i szybko. W oparciu o wzrost liczby DC można przewidzieć, u których pacjentów nastąpi progresja do wiremii BKV [6]. Wczesne wykrycie reaktywacji wirusa BK u biorców nerki może pozwolić na okresowe zmniejszenie leczenia immunosupresyjnego, unikając w ten sposób utraty przeszczepu. Część autorów uważa oznaczanie ilości DC w osadzie moczu za alternatywną, tanią metodę, która wykazuje dobrą korelację z ilościowymi testami PCR (pomimo jej niższej ujemnej wartości predykcyjnej [4, 7]) i uważa ją za przydatną w badaniach przesiewowych, diagnostyce oraz monitorowaniu BKVN. ●

Piśmiennictwo:

[1] *Polyomavirus Allograft Nephropathy: Clinico-Pathological Correlations,* Volker Nickeleit and Harsharan K. Singh; https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6204/.

[2] *Zakażenia ludzkimi poliomawirusami osób poddanych immunosupresji*, Sylwia Rynans, Tomasz Dzieciątkowski, Grażyna Młynarczyk, Post. Mikrobiol. 2011, 50, 3, 191–19; http://www.pm.microbiology.pl/web/archiwum/vol5032011191.pdf.

[3] *BK Polyoma Virus Allograft Nephropathy: Ultrastructural Features from Viral Cell Entry to Lysis*, Cinthia B. Drachenberg, John C. Papadimitriou, Ravinder Wali, Christopher L., Cubitt Emilio Ramos; https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1600-6135.2003.00237.x.

[4] *Decoy cells in urine cytology: A useful clue to post-transplant polyoma virus infection,* V. Geetha, Lakshmi Rao, Vidya Monappa, M.S. Susmitha and Ravindra Prabhu; J Cytol. 2012 Apr-Jun; 29(2): 133–134 doi: 10.4103/0970-9371.97157.

[5] *Bright Field Microscopy to Detect Decoy Cells Due to BK Virus Infection in the Fresh and Unstained Urine Sediment in Kidney Allograft Recipients*, Poloni J.A., Pinto G.G., Giordani M.S., Keitel E., Inocente N., Voegeli C.F., Fogazzi G.B., Pasqualotto A.C., Rotta L.N. J Clin Lab Anal. 2016 Nov;30(6):1044–1050. doi: 10.1002/jcla.21978. Epub 2016 Apr 28.

[6] *Prediction of Early BK Virus Infection in Kidney Transplant Recipients by the Number of Cells With Intranuclear Inclusion Bodies (Decoy Cells).* Yamada Y., Tsuchiya T., Inagaki I., Seishima M., Deguchi T. Transplant Direct. 2018 Feb https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5811269/.

[7] *BK Virus Nephritis After Renal Transplantation*. Dall A., Hariharan S. Clin J Am Soc Nephrol. 2008 Mar. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3152275/.

[8] *Śródmiąższowe zapalenie nerki przeszczepionej wywołane wirusem Polyoma BK,* Matłosz B., Durlik M. Przegląd Epidemiologiczny 2006; 60:133–140.

[9] *Decoy cells in the urine cytology of a renal transplant recipient: An immunohistochemical study,* K. Raveendran Pillai, K. Jayasree, Ramdas Pisharody, Elizabeth K. Abraham. Pathology & Microbiology Year : 2010 Volume :53 Issue:2 Page: 347–350.

[10] *Przypadek nefropatii BKV wykrytej w biopsji protokolarnej*, Maciej Sawosz, Arkadiusz Urbanowicz, Agnieszka Perkowska, Teresa Bączkowska. Forum Nefrologiczne 2012;5(2):124–130. https://journals.viamedica.pl/forum_nefrologiczne/article/view/19173.

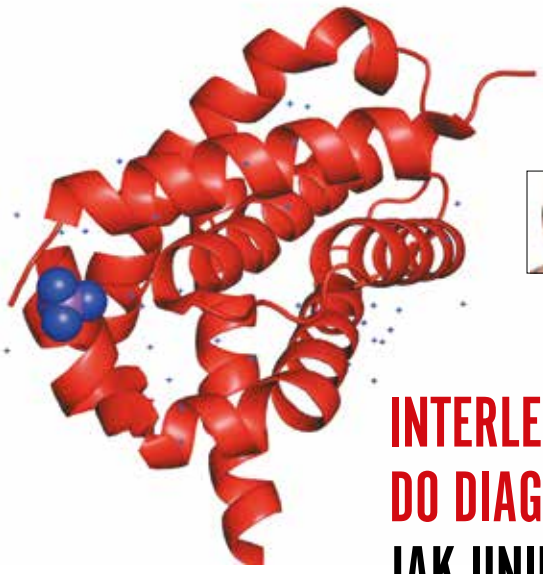
[11] *Polyomaviruses and Human Diseases*. Pages 1–18 and 201–212. Nasimul Ahsan and Keerti V. Shah.

[12] *Human Polyoma Viruses and Disease with Emphasis on Clinical BK and JC.* Raghavender Boothpur and Daniel C. Brennan. J Clin Virol. Author manuscript; available in PMC 2013 Sep 16. Published in final edited form as: J Clin Virol. 2010 Apr; 47(4): 306–312. Published online 2010 Jan 8. doi: 10.1016/j.jcv.2009.12.006.

[13] *An album of urinary microscopy images in a clinical context.* Dr. G.B. Fogazzi and Dr. S. Verdesca. http://www.ndt-educational.org/page-23-147-0-335--analbumofurinarymicroscopyimagesinaclinicalcontextpartiii.php

[14] *BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies.* George R. Ambalathingal, Ross S. Francis, Mark J. Smyth, Corey Smith, Rajiv Khanna. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28298471/.

[15] *„Decoy cells" in the urine due to polyomavirus BK infection: easily seen by phase-contrast microscopy*. Fogazzi GB, Cantù M, Saglimbeni L. Nephrol Dial Transplant 2001; 16: 1496–1498.





Karolina Bukowska-Strakova
Zakład Immunologii Klinicznej, Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Wydział Lekarki, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

INTERLEUKINA 6 – OD BIOLOGII, PRZEZ KLINIKĘ, DO DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ. JAK UNIKNĄĆ PUŁAPEK DIAGNOSTYCZNYCH U PACJENTÓW Z TERAPEUTYCZNĄ LUB WRODZONĄ BLOKADĄ SYGNAŁOWANIA IL-6?

Streszczenie

Oznaczenie poziomu interleukiny 6 (IL-6) do czasu pandemii SARS-Cov-2 było badaniem zlecanym bardzo rzadko, nawet w specjalistycznych laboratoriach. Obecnie oznaczenie to wykonuje się najczęściej w jednotach prowadzących pacjentów z COVID-19. Jednak mimo, iż w większości laboratoriów diagnostycznych nie oznacza się tej cytokiny per se, to jednak warto pogłębić wiedzę na jej temat. Coraz częściej bowiem w terapii wykorzystywane są leki biologiczne skierowane przeciwko osi IL-6, a wskazania do ich stosowania ciągle się poszerzają. Co ważne, terapeutyczna blokada sygnałowania IL-6, podobnie jak wrodzona utrata funkcji IL-6R, diametralnie zmieniają sposób w jaki przebiega reakcja zapalna, w tym również laboratoryjne wskaźniki stanu zapalnego. Zatem, interpretacja wyników badań laboratoryjnych takich pacjentów, nawet tak podstawowych parametrów jak CRP, OB, morfologia czy fibrynogen, bez zrozumienia mechanizmu działania samej IL-6, może przysporzyć wielu trudności. Blokowanie sygnalizacji IL-6 wpływa również na metabolizm, zmieniając poziom cholesterolu czy trójglicerydów.

W niniejszej pracy przedstawione zostaną najważniejsze aspekty biologicznego działania IL-6 oraz różne drogi aktywacji jej receptora w kontekście terapeutycznej i wrodzonej blokady sygnałowania IL-6, ze szczególnym uwzględnieniem zmian podstawowych parametrów hematologicznych i biochemicznych u takich pacjentów.

IL-6 jako cytokina plejotropowa

Interleukina (IL)-6 została po raz pierwszy zidentyfikowane w 1983 r. przez Kishimoto i wsp. jako czynnik stymulujący limfocyty B [1]. Najszerzej opisana funkcja IL-6 związana jest z odpowiedzią immunologiczną. IL-6 jest białkiem wytwarzanym lokalnie w stanach zapalnych [2] i jest odpowiedzialna jest za podstawowe objawy zapalenia jak "obrzęk", „zaczerwienienie", „ból" czy gorączka [3, 4, 5, 6]. IL-6 przechodząc przez barierę krew–mózg inicjuje syntezę PGE2 (ang. *Prostaglandin E2*) w podwzgórzu, co podwyższa punkt nastawczy (ang. *therm set point*) w ośrodku regulacji temperatury, zwiększając tym samym temperaturę organizmu [7]. Stymuluje również produkcję białek ostrej fazy, takich jak białko C-reaktywne (CRP), surowiczy amyloid A (ang. *serum amyloid A-SAA*) oraz fibrynogen, przez co wpływa również na poziom OB (Odczyn Biernackiego) [8]. IL-6 indukcje ponadto syntezę hepcydyny, hormonu blokującego wchłanianie żelaza, odgrywając tym samym rolę w metabolizmie tego pierwiastka [9, 43]. Wykazano odwrotną korelację między poziomem IL-6 a poziomem żelaza w surowicy [10]. IL-6 produkowana jest przez różne typy komórek w tym zrębowe komórki szpiku kostnego, limfocyty T, makrofagi, komórki dendrytyczne, fibroblasty, komórki w błonie maziowej, komórki śródbłonka, komórki glejowe i keratynocyty, natomiast komórki docelowe dla na IL-6 to limfocyty B, limfocyty T, hepatocyty, monocyty, komórki śródbłonka naczyniowego i synowiocyty [11]. Ponieważ IL-6 jest również wytwarzana przez adipocyty, osoby otyłe mają wyższy bazalny poziom CRP [12]. IL-6 bierze udział w dojrzewaniu limfocytów B, stymuluje produkcję neutrofili w szpiku kostnym i wytwarzanie płytek krwi [13]. W zależności od drogi aktywacji IL-6 może wykazywać działanie przeciwzapalnie lub prozapalne (droga klasyczna aktywacji bądź tzw. trans-sygnałowanie) [15].

Należy pamiętać, że poza bardziej oczywistą rolą tej interleukiny w układzie immunologicznym, IL-6 jako cytokina plejotropowa ma bardzo szerokie spectrum aktywności biologicznych, tj. bierze udział w regeneracji tkanek, metabolizmie, utrzymaniu struktury kości czy funkcjonowaniu mózgu. IL-6 jest uważana również za miokinę, czyli cytokinę wytwarzaną w mięśniach, w odpowiedzi na skurcz [16]. Podczas ćwiczeń IL-6 jest uwalniana do układu

krążenia i uważa się, że niektóre korzyści zdrowotne wynikające z aktywności fizycznej zawdzięczamy właśnie IL-6. Wykazano, że zmniejsza ona masę trzewnej tkanki tłuszczowej, zmniejsza glikemię poposiłkową i wydzielanie insuliny, opóźnia tempo opróżniania żołądka, a poprzez działanie w OUN (ośrodkowy układ nerwowy) zmniejsza apetyt, a poziom jej ekspresji w OUN jest odwrotnie skorelowany z otyłością [31, 32]. Natomiast blokada IL-6 znosi część tych efektów [32]. Ponadto, bieganie hamuje wzrost guza nowotworowego poprzez mobilizację i redystrybucję komórek NK, co również przypisuje się działaniu IL-6 [20]. W modelu mysim wykazano również jej udział w proliferacji komórek mezangialnych nerek i keratynocytów skóry [13]. Te mniej oczywiste funkcje IL-6 należy również mieć na uwadze w kontekście potencjalnych skutków ubocznych terapii lekami biologicznymi skierowanymi przeciwko osi IL-6. Trzeba jednak podkreślić, że nie wszystkie funkcje przypisywane IL-6 na podstawie badań na modelu zwierzęcym zostały potwierdzone u ludzi [11].

IL-6 w patologii

W stanie fizjologicznym, we krwi obwodowej, IL-6 jest niewykrywana lub występuje na bardzo niskim poziomie. Jej poziom jest podwyższony w stanach zapalnych, w infekcjach (szczególnie wysoki poziom w posocznicy), w chorobach autoimmunizacyjnych, chorobach sercowo-naczyniowych, w niektórych nowotworach, w udarze mózgu, urazach czy nawet w cukrzycy [14]. Podwyższony poziom IL-6 jest również stwierdzany u pacjentów z depresją i schizofrenią, jednak rola IL-6 w patogenezie tych zaburzeń psychicznych jest niejasna [14]. Nadmierna synteza IL-6 lub zaburzona sygnalizacja receptora IL-6R leży u podłoża wielu chorób zapalnych, a jej centralną rolę udowodniono w przypadku kilku chorób dzięki selektywnemu zablokowaniu receptora IL-6R [21].

Objawy kliniczne schorzeń przebiegających z hiperekspresją IL-6, takich jak choroba Castlemana (łagodny rozrost komórek układu limfatycznego) czy rematoidalne zapalnie stawów (RZS), idealnie wpisują się w opisane powyżej fizjologiczne funkcje IL-6. W chorobie Castlemana występuje przewlekła gorączka, wzrost CRP i SAA, wzrost liczby płytek krwi i γ-globulin. W ocenie immunohistochemicznej ośrodków rozmnażania zmienionych chorobowo węzłów chłonnych stwierdza się dodatnie barwienie na IL-6, a po resekcji węzła chłonnego objętego zmianami ogniskowymi poziom IL-6 spada [22]. W RZS również obserwuje się objawy związane ze zwiększonym wydzielanie IL-6, takie jak obrzęk i ból w pobliżu stanu zapalnego, a we krwi stwierdza się wzrost CRP i/lub wzrost OB [23]. Wysoki poziom IL-6 w RZS prowadzi również do niedoborów żelaza [10]. Pacjenci z chorobą Castlemana leczeni przeciwciałem przeciwko receptorowi dla IL-6 wykazywali zmniejszenie poziomu CRP, SAA, fibrynogenu i immunoglobulin, a u pacjentów z RA zmniejszał się obrzęku stawów, spadało CRP i hepcydyna oraz normalizowała się liczba płytek krwi [24].

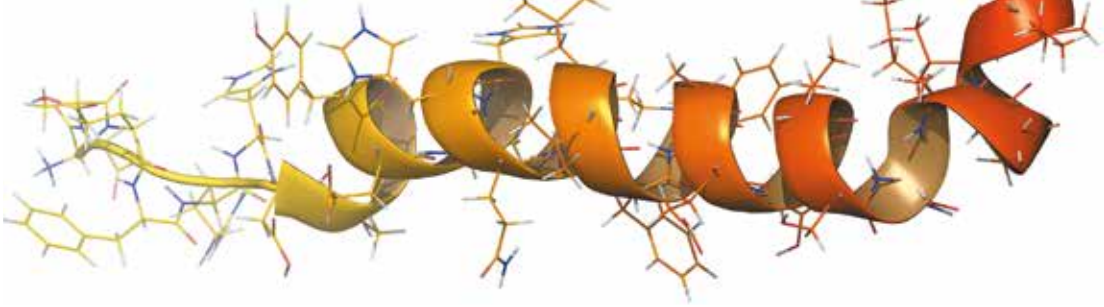
Tocilizumab — anty-IL-6R

Humanizowane przeciwciało monoklonalne, blokujące sygnalizację receptora interleukiny IL-6 (IL-6R) — tocilizumab (TCZ) — jest obecnie zatwierdzone w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów (RA) oraz młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów w ponad 100 krajach na całym świecie [25, 43]. Wysoka skuteczność tocilizumabu w RZS przyczyniła się do podjęcia kolejnych prób klinicznych, w efekcie których lek ten został zatwierdzony do leczeniu choroby Castlemana i Zespół Takayasu (w Japonii) [26], do leczenia olbrzymiokomórkowego zapalenia tętnic (w Unii Europejskiej i Stanach Zjednoczonych (USA)) [27], oraz do leczenie ciężkiego zespołu uwalniania cytokin indukowanego przez limfocyty T z chimerycznym receptorem antygenowym (CAR T-cells) zarówno u dorosłych jak i u dzieci (w USA) [28]. Obecnie trwają badania kliniczne nad skutecznością tocilizumabu w ostrych i przewlekłych chorobach zapalnych, tj. cukrzyca i toczeń rumieniowaty układowy. Natomiast celowanie w oś IL-6 wydaje się mieć mniejsze znaczenie w chorobie zapalnej jelit (IBD) [43].

Z uwagi na wielopłaszczyznowe spektrum działania samej IL-6, stosowanie TCZ ma również szerokie działania niepożądane. Blokada IL-6R u pacjentów może prowadzić m.in. do neutropenii i zwiększonej podatności na infekcje bakteryjne czy grzybicze [29], do wzrostu poziomu cholesterolu i trójglicerydów w surowicy i przyrostu masy ciała [30, 33] czy do spadku poziomu płytek (rzadko jednak związanego ze skłonnością do krwawienia). Do rzadziej występujących działań niepożądanych należą reakcje skórne i błon śluzowych, takie jak wysypki, zapalenie żołądka i owrzodzenie jamy ustnej. Rzadkimi, ale ciężkimi reakcjami niepożądanymi była anafilaksja (0,2%) i perforacja przewodu pokarmowego (0,26%) [34].

Wrodzony brak IL-6R

Chociaż konsekwencje nadmiernej, patologicznej sygnalizacji IL-6 u ludzi są dobrze opisane, precyzyjne ustalenie w jaki sposób zaburzony przekaz sygnału od IL-6 wpływa na zdrowie u ludzi, oraz – co szczególnie ważne w świetle coraz szerszych wskazań klinicznych w stosowaniu TCZ – jakie będą konsekwencje jatrogennego upośledzenia tej ścieżki, jest trudne. Wynika to z faktu, że niewiele jest doniesień opisujących skutki upośledzonej sygnalizacji IL-6 u ludzi (dotychczas opisano pojedynczych pacjentów, u których wystąpiły objawy chorobowe związane z obecnością przeciwciał neutralizujących IL-6 [35]), a wyniki badań nad funkcją cytokin prowadzone in vitro, czy in vivo na modelach mysich, rzadko odzwierciedlają rzeczywistą funkcje cytokin u ludzi [11]. Wyniki doświadczeń przeprowadzanych na hodowanych wsobnie szczepach myszy, rzadko znajdują potwierdzenie w ludzkiej populacji, dużo bardziej zróżnicowanej pod kątem genetycznym. I rzeczywiście, wszyscy pacjenci z wrodzonymi niedoborami takich cytokin jak IFN-α/β, IFN-γ, IL-2, IL-7, IL-10, IL-11, IL-12, IL-17, IL-21, IL-23 i GM-CSF lub ich receptorów prezentowali nieoczekiwane fenotypy kliniczne w stosunku do przewidywanej eksperymentalnie funkcji danej cytokin [36]. Niektóre wrodzone niedobory odporności związane z odpowiedzią na wiele cytokin (jak niedobory IRAK4



i MyD88) okazały się jeszcze bardziej zaskakujące [37]. Dlatego opisy kliniczne pacjentów z wrodzonymi niedoborami sygnałowania cytokin dają wyjątkową okazję do ustalenia nieredundantnej funkcji danej cytokiny u ludzi i skutków jej braku.

Badania osób z wrodzonym defektem IL-6R, oprócz podstawowych informacji, dostarczają unikatowych danych o potencjalnym zakresie skutków ubocznych terapeutycznej blokady IL-6. Pierwszy opis dwóch niespokrewnionych pacjentów z wrodzonym niedoborem receptora IL-6 (mutacje genu kodującego IL-6R) opublikowano we wrześniu bieżącego roku. Pacjenci z tym niedoborem prezentują triadę objawów charakterystyczną dla zespół hiper-IgE (HIES), czyli podwyższone IgE, atopowe zapalenie skóry i podatność na zakażenia gronkowcami. Uderzającą cechą u takich pacjentów był brak adekwatnej odpowiedzi zapalnej, w stosunku do ewidentnie toczącej się infekcji. W czasie infekcji w niewielkim stopniu rozwijała się limfadenopatia, ropnie cechował brak rumienia, oraz nie stwierdzano gorączki (u jednej pacjentki stwierdzono gorączkę tylko dwa razy, pomimo iż była wielokrotnie hospitalizowana z powodu zakażeń ogólnoustrojowych). Ponadto, w odpowiedzi na zakażenie występowała eozynofilia, natomiast (w stosunku do nasilenia infekcji), obwodowa odpowiedź neutrofili była minimalna. Co więcej, pomimo znacznego wzrostu poziomów IL-6 w surowicy (co powinno stymulować odpowiedź białek ostrej fazy [38, 39]) CRP w ogóle nie było wykrywalne w standardowym teście diagnostycznym (przy progu detekcji 0,175 mg/litr). Wyniki na modelu mysim sugerowały co prawda, że sygnalizacja IL-6 jest konieczna do produkcji białek ostrej fazy, jednak u ludzi brakowało na to dotychczas niezbitych dowodów. Wyniki uzyskane u pacjentów z niedoborem IL-6R jednoznacznie potwierdziły, że produkcja ludzkiego CRP jest bezpośrednio zależna od sygnalizacji IL-6. Można zatem wnioskować, że mierzalne poziomy CRP u pacjenta leczonego tocilizumabem mogą wskazywać na niepełną blokadę IL-6. U pacjentów z niedoborem IL-6R występowały również inne cechy, związane z nieimmunologiczną funkcją sygnałową IL-6, takie jak wady szkieletu i tkanki łącznej, w tym kraniosynostoza i skolioza [40]. Opis pacjentów z niedoborem IL-6R wyjaśnia dlaczego wczesne wprowadzenie tocilizumabu (w wieku 2 lat), w przeciwieństwie do osób dorosłych, wiąże się z istotnie nasilonymi reakcjami nadwrażliwości typu natychmiastowego [41].

Obserwacje u pacjentów z wrodzonym brakiem IL-6R jednoznacznie wskazały, że IL-6 jest niezbędna do obrony przed zakażeniami gronkowcowymi oraz regulację odpowiedzi alergicznej mediowanej przez IgE, w tym w szczególności wyprysku o ciężkim przebiegu. Stąd pacjenci leczeni przez długi czas blokerami IL-6 powinni być monitorowani pod kątem tych działań niepożądanych.

Co ciekawe, do grupy pacjentów z zespołem hiper IgE, zalicza się również pacjentów z wrodzonymi błędami innych elementów osi IL-6, mianowicie GP130 (IL6ST) oraz STAT3 (ang. *Signal transducer and activator of transcription 3*) [42]. Jednak fenotyp kliniczny tych pacjentów jest nieznacznie różny, w tym również podatność na infekcje. Przykładowo, w przeciwieństwie do pacjentów z mutacją genu kodującego STAT3, u pacjentów z brakiem IL-6R lub GP130 nie stwierdza się przewlekłej kandydozy błon śluzowych i skóry, co wynika z biologicznej charakterystyki tych białek. W fazę badań klinicznych weszły niedawno kolejne leki biologiczne (oprócz przeciwciał anty-IL-6R) ukierunkowane na inne elementy szlaku sygnalizacji IL-6 i wykazano, że blokada różnych etapów sygnalizacji IL-6/IL-6R ma odmienne skutki w patologii choroby [43]. Zatem zrozumie sygnałowania od IL-6 jest kluczowe do zrozumienia mechanizmu działa leków biologicznych o różnym uchwycie szlaku sygnalizacji IL-6 oraz ich działań niepożądanych.

Biologiczny szlak aktywacji IL-6

IL-6 po związaniu się ze swoim receptorem (IL-6R) tworzy kompleks z glikoproteiną 130 (gp130, IL6ST), co powoduje przekazanie sygnału do jądra komórkowego poprzez m.in. fosforylację czynnika transkrypcyjnego STAT3 [44, 45, 46]. Co ważne, wiązanie IL-6 z jej receptorem IL-6R jest niezbędnym krokiem do aktywacji gp130, jako że wolna IL-6 nie wykazuje powinowactwa do gp130 [64].

Wiązanie się IL-6 z receptorem związanym z błoną komórkową indukuje tzw. klasyczną sygnalizację. Receptor IL-6R wykazuje ekspresję głównie na hepatocytach i komórkach układu immunologicznego, ograniczając w ten sposób liczbę komórek odpowiadających na IL-6 w drodze klasycznej sygnalizacji. To właśnie wiązanie IL-6 z receptorami na hepatocytach prowadzi do wytwarzania białek ostrej fazy [8]. Pacjenci z wrodzonymi defektami w genach kodujących STAT3 lub GP130 mają zmniejszone, ale wykrywalne białka ostrej fazy, w tym CRP [47, 48], podczas gdy pacjenci z autoprzeciwciałami przeciw IL-6, którzy wykazują infekcje skórne podobne do pacjentów z zespołem hiper-IgE, mają niewykrywalne poziomy CRP [35]. Zasadniczo uważa się, że klasyczna droga aktywacji IL-6 ma działanie homeostatyczne i przeciwzapalne [85].

Co ciekawe, IL-6R, oprócz formy związanej z błoną komórkową, występuje również w postaci rozpuszczalnej (sIL-6R), wytwarzanej przez proteolityczne odłączenie receptora z błony komórkowej lub przez alternatywny splicing mRNA [49, 50, 51]. Już na początku lat 90. XX wieku stwierdzono, że IL-6R może być złuszczany z powierzchni komórki przez nieznaną jeszcze wówczas proteazę [52, 51]. Wykazano eksperymentalnie, że proteolityczne cięcie IL-6R kończy się po ok 24 godzinach, i można go stymulować za pomocą estrów forbolu (PMA). W tym samym czasie wyizolowano ludzkie mRNA kodujące IL-6R, pozbawione domeny transbłonowej [53], pochodzące z alternatywnego składania mRNA kodującego IL-6R. U myszy nie wykryto alternatywnego składania mRNA IL-6R [54].

Wykazano, że rozpuszczalny IL-6R (sIL-6R) w obecności IL-6 może stymulować komórki, które nie wykazywały ekspresji IL-6R, czyli takie, które nie reagują bezpośrednio na IL-6 [55]. Proces ten nazwano transsygnalizacją [85]. Spekulowano, że ten rodzaj sygnalizacji za pośrednictwem rozpuszczalnego receptora znacząco powiększa spektrum komórek docelowych dla IL-6 [56]. Transsygnalizacja za pośrednictwem sIL-6R może bowiem aktywować praktycznie wszystkie komórki, z uwagi na fakt, że gp130 ulega ekspresji na większości komórek organizmu [57]. Uważa się, że transsygnalizacja IL-6 odpowiedzialna jest głównie za reakcje pro-



zapalne, w tym te patologiczne. Selektywna blokada transsygnalizacji IL-6 nie powoduje bowiem infekcyjnych i metabolicznych działań niepożądanych obserwowanych u pacjentów po globalnej blokadzie IL-6 tocilizumabem [30], a dodatkowo selektywna blokada transsygnalizacji wykazała, że IL-6 po związaniu z receptorem błonowym wykazuje aktywność regeneracyjną w jelicie [17], w nerce [18] oraz w trzustce [19].

Początkowo paradygmat transsygnalizacji IL-6 spotkał się z pewnym sceptycyzmem, ponieważ wcześniej zakładano, że rozpuszczalne receptory działają jako antagoniści, konkurując z receptorami związanymi z błoną. W celu potwierdzenie zjawiska transsygnalizacji zastosowano dwa syntetyczne białka.

Do wykazania istnienia transsygnacji IL-6 zsyntetyzowano cytokinę o nazwie Hyper-IL-6, mającą odpowiadać naturalnie występującym kompleksom IL-6:sIL-6R. Ta syntetyczna cytokina składała się z IL-6 i sIL-6R kowalencyjnie połączonych elastycznym łącznikiem peptydowym. W porównaniu z naturalnymi kompleksami IL-6:sIL-6R, Hyper-IL-6 symuluje sytuację, w której wszystkie cząsteczki IL-6 są uwięzione w kompleksach. Za pomocą Hyper-IL-6 wykazano, że wiele komórek, w tym hematopoetyczne komórki macierzyste [81, 58], embrionalne komórki macierzyste [59, 60] oraz komórki mięśni gładkich [61] mogą odpowiadać na IL-6, jednakże wyłącznie w obecności sIL-6R. Wykazano, że również regeneracja wątroby wymaga połączenia IL-6 z sIL-6R [62, 63]. Warto w tym miejscu jednak podkreślić, że Hyper-IL-6 wykazuje 100-1000 razy silniejsze właściwości w indukowaniu transsygnalizacji niż naturalnie powstające kompleksy IL-6:sIL-6R [64].

Druga syntetyczna cząsteczka – tym razem mająca odpowiadać naturalnie wstępującym rozpuszczalnym kompleksom gp130 – skonstruowana została poprzez dimeryzację dwóch domen zewnątrzkomórkowych sgp130 za pomocą IgG (sgp130Fc). Za jej pomocą wykazano z kolei możliwość hamowania transsygnalizacji [64]. Rozpuszczalne sgp130, wiążąc kompleksem IL-6:sIL-6R, powinno uniemożliwić związanie tego kompleksu z gp130 występującym na powierzchni komórek, hamując tym samym transsygalizację. W układach eksperymentalnych rzeczywiści wykazano, że sgp130Fc specyficznie blokuje transsygnalizację IL-6, nie wpływając na sygnalizację IL-6 za pośrednictwem błonowego IL-6R (sygnalizacja klasyczna). Wynika to z faktu, że – jak już wspomniano – IL-6 nie wykazuje powinowactwa do gp130 [64, 65] (choć w warunkach o wysokim molowym nadmiarze sIL-6R w stosunku do IL-6, sgp130Fc zakłóca również klasyczną sygnalizację IL-6 [65]).

Funkcja buforowa rozpuszczalnych sIL-6R i sgp130Fc?

Fizjologiczna funkcja naturalnie powstających kompleksów IL-6:sIL-6R (odpowiedników Hyper-IL-6), czy rozpuszczalnych kompleksów sgp130 (odpowiedników sgp130Fc) nie jest do końca jasna. Wysokie endogenne stężenia sIL-6R i sgp130 w surowicy krwi (w stosunku do stężenia samej IL-6) są zwykle uważane za systemowy układ buforowy, który może albo promować transsygnalizację poprzez tworzenie kompleksów IL-6:sIL-6R, albo hamować transsygnalizację przez kompleksy IL-6:sIL-6R:sgp130 [85]. Jednak obecnie nie jest jasne ile z tych kompleksów występuje in vivo, a jaka część IL-6 we krwi obwodowej występuje w postaci wolnej. Faktyczne tworzenie takich kompleksów i ich rzeczywista rola jako układu buforowego, jest pochodną stężeń oraz powinowactw międzycząsteczkowych poszczególnych składowych tego układu [66]. Stężenie IL-6 we krwi osób zdrowych mieści się w zakresie 1–5 pg/ml [67, 68, 69]. Jej poziom zwiększa się kilkakrotnie w stanach zapalnych, natomiast w terminalnej fazie sepsy osiąga poziom nawet kilku mg/ml [70]. Jeśli chodzi o sIL-6R, to jest on zawsze obecny w stosunkowo wysokich stężeniach w surowicy krwi (25-75 ng/ml), a podczas stanu zapalnego jego stężenie zwiększają się jedynie 2-3 razy [71, 72]. Stężenie sgp130 w surowicy zdrowych osób jest jeszcze wyższe: między 100-400 ng/ml [71, 69]. Jeśli przyjąć za wcześniejszymi doniesieniami że IL-6 wiąże się we krwi z sIL-6R z powinowactwem 1nM, a kompleks IL-6:sIL-6R wiąże się z sgp130 z powinowactwem 0,01 nM [71, 77], to powinno to prowadzić do neutralizacji aktywności wolnej IL- 6. Na podstawie takich wartości powinowactwa międzycząsteczkowego, kompleksy te uważano tradycyjnie za układ buforowy działania IL-6 we krwi, chroniący organizm przed nadmierną ogólnoustrojową sygnalizacji IL-6 [73]. Za buforowym charakterem rozpuszczalnych IL-6R przemawiały również badania nad polimorfizmem pojedynczego nukleotydu (SNP) w ludzkim genie kodującym IL-6R, który zmienia Asp358 w Ala358 [74]. Proteolityczne odcinanie IL-6R zawierającego Ala358 jest bowiem bardziej wydajne, co u osób homozygotycznych skutkuje znacznie wyższym poziomem sIL-6R [75], a co za tym idzie, potencjalnie wyższą pojemnością buforową układu sIL-6R/sgp130. Ponieważ osoby te są mniej podatne na choroby sercowo-naczyniowe i zapalenie stawów, wskazywano na znaczenie naturalnych sIL-6R w patofizjologii chorób zapalnych [76].

Jednak alternatywna funkcja tych rozpuszczalnych białek może również polegać na tworzeniu przejściowych kompleksów z IL-6, które szybko się łączą i dysocjują, zwiększając tym okres półtrwania IL-6. Okazuje się, że wstępne szacunki powstawania kompleksów IL-6:sIL-6R oparto na publikowanym wcześniej powinowactwie wiązania (Kd) między IL-6 i sIL-6R określonym jako 0,5-1 nM [82, 71, 77]. Na podstawie tych wartości wyliczono, że dla niskich do średnich poziomów IL-6 (poniżej 10 ng/ml), większość IL-6 będzie „uwięziona" w kompleksach IL-6:sIL-6R, a przy stężeniu IL-6 wynoszącym 10 ng/ml (oraz stężeniu sIL-6R wynoszącym 50 ng/ml) 59% IL-6 powinno występować w formie skompleksowanej [71]. Niedawne dane eksperymentalne [66] wykazały jednak, że przy takich stężeniach (10 ng/ml dla IL-6 oraz 50 ng/ml dla sIL-6R), tylko około 1% IL-6 znajduje się w kompleksie z sIL-6R, co wskazuje na znacznie wyższe wartości Kd. Inne opublikowane prace również wskazywały na znacznie wyższe wartości Kd (14 - 50 nM) [78, 83, 79, 80]. Sugeruje to, że endogenne sIL-6R tworzą we krwi jedynie przejściowe kompleksy z IL-6, co wyjaśniałoby również niską aktywność biologiczną naturalnych kompleksów IL-6:sIL-6R w porównaniu do Hyper-IL-6 [81]. Wydaje się zatem, że skoro kompleksy IL-6:sIL-6R powstają z dużo mniejszą częstotliwością



niż wcześniej przewidywano, to w warunkach in vivo klasyczna droga aktywacji powinna być dominująca, a systemowa transsygnalizacja powinna mieć niewielkie znaczenie. To samo dotyczy endogennego sgp130 jako naturalnego inhibitora transsygnalizacji (stała dysocjacji dla kompleksu IL-6:IL-6R:gp130 szacowana na 0,01–0,05 nM [82, 83]). Wydaje się, że ogólnoustrojowy poziom endogennego sgp130 jest zdecydowanie niewystarczający do zahamowania transsygnalizacji. Należy tu jednak zauważyć, że powyższe wnioski co do roli naturalnie występujących sIL-6R i sgp130 oparto na ich stężeniach opisywanych w krążeniu ogólnoustrojowym. Nie wiadomo jednak, czy stężenia tych cząsteczek nie są znacznie wyższe lokalnie w miejscu zapalnym, gdzie dzięki działaniu wydzielanych proteaz zachodzi masowa produkcja sIL-6R [86] i gdzie sgp130 może również być obecny w znacznie wyższych stężeniach [87]. Szczególnie w przypadku transsygnalizacji parakrynnej i autokrynnej nawet małe ilości kompleksów IL-6:sIL-6R mogą być wystarczające do stymulacji gp130 na sąsiednich komórkach.

Wydaje się, że terapeutyczne zastosowanie w przewlekłych chorobach zapalnych syntetycznych inhibitorów transsygnalizacji takich jak pochodne sgp130Fc (olamkicept) [84], jest zasadne, ponieważ takie związki wykazują znacznie wyższe powinowactwo wiązania i będą selektywnie blokować patologiczną transsygnalizację bez wpływu na klasyczną sygnalizację. Stąd przyszłe terapie oparte na IL-6 mogą wykorzystywać specyficzną blokadę transsygnalizacji IL-6, a nie globalną blokadę wszystkich aktywności IL-6 [85].

Inna niedawna praca, oparta m.in. na modelu matematycznym sugeruje z kolei, że przeciwne odpowiedzi pro- i przeciwzapalne zapoczątkowane przez trans- i klasyczną sygnalizację IL-6 zależą wyłącznie od stosunków ekspresji podjednostek całego kompleksu receptorowego [88]. Badania te otwierają nowe perspektywy w projektowaniu selektywnych terapii skierowanych na blokowanie prozapalnej sygnalizacji trans.

Oznaczanie IL-6 w MLD

Oznaczanie IL-6 może być potencjalnie użytecznym marker aktywacji układu odpornościowego. Stężenie IL-6 mierzy się zazwyczaj we krwi, choć jej poziom można również mierzyć w innych płynach ustrojowych, takich jak płyn stawowy czy płyn mózgowo-rdzeniowy. IL-6 można zlecić w połączeniu z testem CRP, gdy pacjent ma objawy stanu zapalnego lub infekcji (w szczególności u pacjentów leczonych przeciwciałami anty-IL-6R). Podwyższone stężenie IL-6 w osoczu może służyć jako marker diagnostyczny posocznicy i jest skorelowane z nasileniem objawów i przeżyciem pacjentów z sepsą [89]. Sugerowano ponadto, że oznaczenie IL-6 wraz z CRP można służyć jako czynniki predykcyjny ciężkich infekcji bakteryjnych u noworodków z gorączką [90].

Cześć autorów wskazuje, że ocena krążących cytokin oraz białek ostrej fazy może być szybkim i stosunkowo tanim narzędziem, które pomaga w rozróżnieniu między infekcjami o etiologii wirusowej i bakteryjnej [91]. Opisuje się, że infekcje bakteryjne najczęściej charakteryzują się wysokim poziomem IL-1β i IL-6, i co tym idzie znaczną produkcją CRP [92]. IL-1β stymuluje odpowiedź immunologiczną typu Th17, która jest kluczowa w walce zwłaszcza przeciwko bakteriom zewnątrzkomórkowym, a CRP ułatwia ich fagocytozę. Natomiast infekcje wirusowe są na ogół związane ze wzrostem w osoczu IL-18 (co prowadzi do hiperferrytinemii), przy jednoczesnym niskim poziomie CRP [93]. IL-18 stymuluje odpowiedź immunologiczną typu Th1, która – poprzez indukcję IFN-γ – odgrywa kluczową rolę w obronie gospodarza przed wewnątrzkomórkowymi drobnoustrojami.

Wykazano, że w porównaniu do pacjentów z wirusowym zapaleniem jelit, u pacjentów z bakteryjnym zapaleniem jelit stężenia IL-6 i CRP w osoczu są znacznie wyższe [94]. Różny poziom CRP może również ułatwić rozróżnienie zapalenia płuc o etiologii bakteryjnej od wirusowej, jak również paciorkowcowego zapalenia gardła od mononukleozy zakaźnej [95]. Jednak nie jest do końca jasne czy u pacjentów z infekcją dolnych dróg oddechowych dodanie do CRP oznaczenie IL-6 (lub innego markera zapalnego jak IL-18 czy prokalcytoniny) daje dodatkowe korzyści jeśli chodzi o rozróżnieniu etiologii mikrobiologicznej [96, 97]. Co dziwne, pacjenci z grypą wykazują reakcję zapalną bardziej przypominającą odpowiedź na infekcję bakteryjną niż wirusową [96] – chociaż nie można wykluczyć, że wynika to np. z (niewykrytej) koinfekcji bakteryjnej [98]. Bez szeroko prowadzonych badań w dużych kohortach pacjentów z różnymi infekcjami (w tym grzybiczymi i pasożytniczymi) nie można stwierdzić czy te dwa rodzaje reakcji zapalnych (IL-1/IL-6/CRP w porównaniu z IL-18/ferrytyną) rzeczywiście w pełni odzwierciedlają różnice w infekcji bakteryjno/wirusowej.

Istnieją ponadto badania wskazujące, że cytokiny w surowicy pacjenta mogą być marker służącym do rozróżnienia zakażeń bakteriami Gram-dodatnimi lub Gram-ujemnymi. Zaobserwowano, że bakterie Gram-ujemne mogą indukować wyższe poziomy IL-6, IL-10 i IL-8 w porównaniu do bakterii gram-dodatnich [99, 100, 101]. Jednak niedawne badania potwierdziły, że jedynie IL-8 wykazuje znaczącą różnicę między infekcją bakteriami Gram-ujemnymi i Gram-dodatnimi. Jeśli zaś chodzi o poszczególne gatunki bakterii, wydaje się, że nie można ich zidentyfikować na podstawie wzoru ekspresji cząsteczek zapalnych [102]. Ze względu na to, że bakterie mają wspólne cechy (takie jak lipopolisacharyd na bakteriach Gram-ujemnych), wrodzony układ odpornościowy wytwarza podobny wzór cząsteczek zapalnych [103].

Wnioski

Reasumując, choć IL-6 jest podwyższona w różnych stanach patologicznych, wiąże się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju niektórych chorób lub pogorszeniem rokowania, przydatność takiego testu w warunkach klinicznych wciąż jest niejasna, stąd nie jest to rutynowo wykorzystywane badanie. Niemniej jednak, pomimo że oznaczenie samej IL-6 jest rzadkim badaniem, zrozumienie jej biologicznego działania jest konieczne do prawidłowej interpretacji wyników badań od pacjentów z jatrogenną bądź wrodzoną blokadą sygnałowania IL-6. ●

Piśmiennictwo dostępne u autorki



dr n. farm. Paweł K. Kunicki[1,2]

[1] Zakład Chemii Leków, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny
[2] Zakład Biologii Medycznej, Instytut Kardiologii w Warszawie

ROLA DIAGNOSTY LABORATORYJNEGO W TERAPII MONITOROWANEJ STĘŻENIEM LEKU

Skuteczne prowadzenie terapii monitorowanej stężeniem leku (TDM) wymaga współdziałania trzech podmiotów: (1) lekarza prowadzącego, (2) diagnosty laboratoryjnego i (3) pacjenta. W modelowym zespole terapeutycznym przewidziano także miejsce dla farmaceuty klinicznego wspierającego lekarza.

W tak zdefiniowanym układzie, centralną pozycję zajmuje lekarz komunikujący się dwustronnie z pacjentem oraz z diagnostą. Zadaniem lekarza jest: postawienie diagnozy, wdrożenie odpowiedniego leczenia farmakologicznego z doborem dawki w oparciu o dostępną wiedzę dotyczącą pacjenta oraz leku, przewidzenie interakcji lekowych. Wykorzystując wyniki oznaczeń stężenia leku i parametrów farmakokinetycznych lekarz ocenia skuteczność i bezpieczeństwo prowadzonego leczenia, decyduje o wprowadzanych zmianach dawki, preparatu, substancji leczniczej. W tym zakresie może, a często wręcz powinien, konsultować się nie tylko z farmaceutą klinicznym (o ile jest dostępny w zespole), ale z autoryzującym badanie TDM diagnostą laboratoryjnym. Zadaniem diagnosty jest wiarygodne oznaczenie stężenia leku(ów) w otrzymanym materiale biologicznym, interpretacja uzyskanych wyników farmakokinetycznych oraz współpraca z lekarzem w indywidualizacji prowadzonego leczenia. W takim teoretycznym układzie nie ma potrzeby kontaktu diagnosty z pacjentem. W praktyce pacjent niekiedy zwraca się do laboratorium (np. telefonicznie) o informację dotyczącą badania, w tym warunków pobrania krwi i wówczas, (także podczas samego pobrania), często wykrywane są błędy przedlaboratoryjne wynikające z niedostatecznej wiedzy pacjenta, personelu pielęgniarskiego, a także lekarza. Powszechnie uważa się za oczywiste, że lekarz musi poinstruować pacjenta o dawkowaniu i sposobie przyjmowania leków. Niestety, okazuje się, że nierzadko przy zlecaniu monitorowania stężenia leku w ramach TDM, informacja dla chorego zamyka się w lakonicznych słowach: *„Proszę przed kolejną wizytą zrobić oznaczenie propafenonu”*, co prostą drogą prowadzić może do błędów przedlaboratoryjnych, które w fundamentalny sposób zmieniają wynik analizy. Zatem, w trosce o zapewnienie wiarygodnego wyniku diagnosta laboratoryjny ma obowiązek upewnić się, czy próbka krwi została pobrana we właściwy sposób, w odpowiednim czasie i czy była prawidłowo przechowywana (transportowana).

W razie stwierdzenia błędu, który może wypaczyć wynik, materiał należy pobrać ponownie, w sposób nie budzący wątpliwości. Taka okoliczność wymaga od diagnosty dobrego kontaktu z zespołem pielęgniarskim, lekarzem, a często także z pacjentem. Podkreślmy, że zgodnie z obowiązującymi przepisami, stwierdzenie takiej niezgodności upoważnia diagnostę, by zakwalifikować materiał jako niezdatny do badania i w konsekwencji odmówić wykonania badania [1].

Paleta potencjalnych błędów przedlaboratoryjnych jest w TDM zdecydowanie bogatsza niż przy wykonywaniu rutynowych analiz biochemicznych. Oprócz pobrania próbki krwi do niewłaściwego typu probówki (przykładowo: surowica zamiast krwi pełnej przy oznaczaniu podstawowych leków immunosupresyjnych), nieprawidłowego przechowywania materiału przed analizą lub błędu technicznego podczas pobrania (rozcieńczenie krwi, hemoliza, masyw-

ne wykrzepianie itp.) dochodzą czynniki związane z dawkowaniem badanego leku. Przy monitorowaniu najpowszechniej stosowanego parametru farmakokinetycznego, czyli stężenia minimalnego w stanie stacjonarnym (C_{min}, C_0), najczęstsze błędy to:

- zbyt krótki okres podawania leku (brak stanu stacjonarnego) skutkujący zaniżonym wynikiem,
- pobranie próbki krwi wkrótce po podaniu leku powodujące uzyskanie znacznie (niekiedy wielokrotnie) zawyżonego wyniku,
- pobranie próbki krwi po przerwie w podawaniu leku (pominięcie kilku dawek leku przez pacjenta) dające wynik zaniżony, często wielokrotnie, nawet poniżej granicy oznaczalności metody, co przy braku wykrycia nieprawidłowego czasu pobrania może prowadzić do niebezpiecznych dla chorego decyzji terapeutycznych.

W przypadku leków podawanych we wlewie dożylnym, gdy monitorowane są: stężenie minimalne (C_{min}), maksymalne (C_{max}), szybkość eliminacji leku (t1/2, kel), ilość możliwych do popełnienia błędów jest zwielokrotniona, a jeśli procedura pobrania nie jest dla zespołu klinicznego zrozumiała i/lub nie jest dokładnie przestrzegana (brak szkoleń), wówczas ryzyko wystąpienia niezgodności jest wysokie. Szczególnie dlatego, że np. podawane tą drogą antybiotyki aminoglikozydowe lub wankomycyna często stosowane są w oddziałach pooperacyjnych lub intensywnej opieki medycznej, gdzie praca personelu medycznego w warunkach zagrożenia życia pacjenta obarczona jest podwyższonym stresem i koniecznością szybkiego podejmowania decyzji i działań.

Jednocześnie, dla wiarygodnego wykonania badania, diagnosta laboratoryjny musi posiadać świadomość ograniczeń (i możliwości) stosowanej metody analitycznej. Wykorzystywana metodyka powinna być dobrana do potrzeb danego ośrodka, prawidłowo zwalidowana, a podczas rutynowego stosowania – odpowiednio kontrolowana. Konieczność walidacji metody analitycznej jest zawarta w standardach obowiązujących dla MLD (częściowa walidacja wymagana jest także dla metod komercyjnych, certyfikowanych). Jednym z podstawowych parametrów metody analitycznej jest jej zakres, czyli przedział stężeń, w którym zapewnia ona uzyskiwanie wiarygodnych wyników, a który powinien być dopasowany do stężeń występujących w badanych próbkach krwi pacjentów. Zależy on nie tylko od dawkowania leku, ale zwłaszcza od monitorowanego parametru (C_{min}, C_{max}, AUC). Wiedza o zakresie metody analitycznej stosowanej w danym laboratorium powinna być równocześnie dostępna dla lekarza zlecającego monitorowanie stężenia leku. Dolną granicę zakresu stanowi wartość LLOQ określająca najniższe stężenie o akceptowalnej dokładności i precyzji. Aktualne zalecenia International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT) stanowią, że wartość LLOQ powinna być 2–3-krotnie niższa od najniższych stężeń, które spodziewane są w badanych próbkach pobranych od pacjentów leczonych danym lekiem.

Terapia monitorowana zasadniczo opiera się na koncepcji zakresu terapeutycznego, czyli zakłada przewlekłe utrzymywanie u pacjenta stężenia leku w założonym uprzednio przedziale stężeń terapeutycznych. Niskie stężenia leku, które świadczą przeważnie o niedostatecznym dawkowaniu lub braku adherencji (*non-adherence*) i powinny być wiążące dla korekcji terapii, muszą być tak samo wiary-

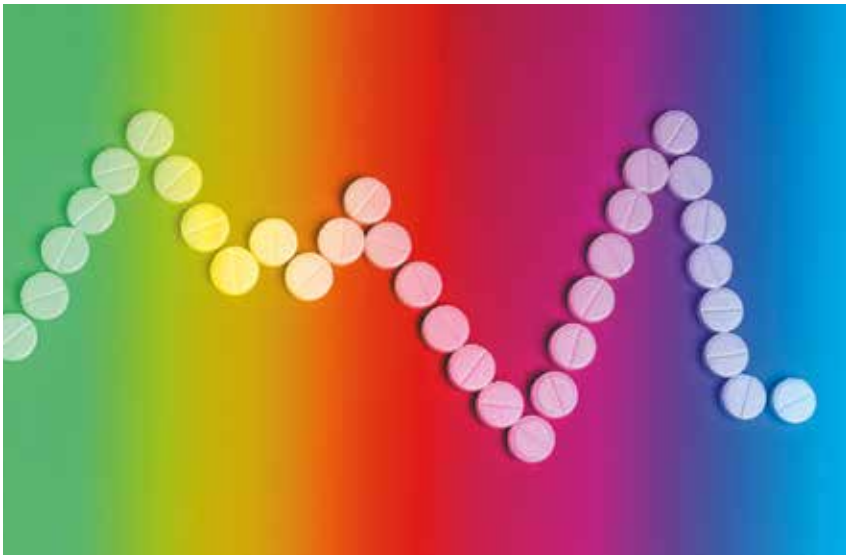
PRACE NAD REKOMENDACJAMI

Wychodząc naprzeciw zapotrzebowaniu na informacje dotyczące specjalistycznych badań diagnostycznych, Komisja do spraw diagnostyki toksykologicznej KRDL podjęła prace nad przygotowaniem rekomendacji dotyczących oznaczania w medycznych laboratoriach diagnostycznych stężeń leków we krwi dla potrzeb terapii monitorowanej.
Zalecenia te zostaną opracowane z udziałem Krajowego Konsultanta ds. Toksykologii, Grupy Roboczej ds. Toksykologii Klinicznej Kolegium Medycyny Laboratoryjnej oraz ekspertów z International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT).
Ogólne zasady monitorowania stężenia leków we krwi przedstawione zostaną w odniesieniu do obowiązujących w Polsce regulacji prawnych. Omówione zostaną specyficzne dla tych badań aspekty fazy przedanalitycznej, różnice pomiędzy dostępnymi i stosowanymi w MLD metodami analitycznymi oraz fundamentalna problematyka właściwej interpretacji wyniku badania.



godnie oznaczane, jak te leżące w zakresie terapeutycznym. Z drugiej strony, konieczne jest zwalidowanie rozcieńczania próbki (tzw. *dilution test*), gdy stę żenie przekracza górny zakres metody (ULOQ). Raportowanie wyniku w ramach TDM musi w związku z tym uwzględniać zarówno możliwości metody analitycznej, jak i odpowiednią interpretację laboratoryjną, zarówno dla wyników subterapeutycznych, jak i dla stężeń potencjalnie toksycznych. Należy także podkreślić, że specyfiką badań w TDM jest możliwość występowania w jednej serii próbek zawierających terapeutyczne stężenie leku, stężenie toksyczne przekraczające zakres metody (>ULOQ), jak i próbek nie zawierających w ogóle oznaczanej substancji (z różnych przyczyn). Diagnosta powinien, jeśli to tylko analitycznie możliwe, dla stężeń toksycznych raportować wynik liczbowy. Przykładowo, podawanie wyniku pomiaru stężenia C_{max} wankomycyny jako >80 µg/ml, nie jest prawidłowe – z oczywistych względów stanowi różnicę, czy rzeczywiste stężenie leku wynosi 81 µg/ml, czy np. 227 µg/ml [1–5].

Kolejnym istotnym aspektem jest specyficzność metody analitycznej. Generalnie, techniki stosowane w TDM dzielą się na chromatograficzne oraz immunochemiczne. Prawidłowo opracowana i zwalidowana metoda chromatograficzna (zazwyczaj HPLC z różnymi systemami detekcji) jest specyficznym narzędziem pozwalającym na oznaczanie kilku substancji jednocześnie. Z kolei, metody immunochemiczne są dostosowane do rutynowych oznaczeń w medycznych laboratoriach diagnostycznych, zapewniając dużą automatyzację analiz oraz często satysfakcjonujące parametry walidacji. Nieustannie jednak największym problemem jest brak wystarczającej specyficzności metod immunochemicznych powodujący otrzymywanie zawyżonych wyników. Praktyka pokazuje, że w pojedynczych przypadkach można uzyskać kuriozalny wynik leżący w zakresie terapeutycznym, podczas gdy pacjent w ogóle nie jest leczony danym lekiem (cyklosporyna, takrolimus, metoda ACMIA – pierwsza wersja testu). Różnice w wynikach dla tej samej próbki wymagają, by informacja o stosowanej metodzie analitycznej obligatoryjnie towarzyszyła wynikowi badania [2–5].



Innym czynnikiem wpływającym na wiarygodność analiz jest sposób oraz częstotliwość kalibracji metody analitycznej. Badania zazwyczaj zlecane są nieregularnie, i szczególnie w mniejszych ośrodkach, serie badane bywają mało liczne składając się niekiedy z pojedynczych próbek; jednocześnie TDM wymaga wykonywania oznaczeń bez zbędnej zwłoki, ograniczając kuszącą praktykę gromadzenia próbek w większe, oznaczane co kilka, kilkanaście dni, serie. Częsta kalibracja metody dla zaledwie kilku próbek znacząco podnosi koszt badania i w wielu przypadkach jest zbędna; z drugiej strony, przy stosowaniu detekcji opartej na spektrometrii mas (np. LC-MS/MS) konieczne jest wykonywanie kalibracji dla każdej analizowanej serii próbek. Wreszcie, elementem który musi być uwzględniony jest bieżąca kontrola stosowanych w TDM metod, zarówno wewnątrz-, jak i zewnątrzlaboratoryjna. Wartościowe programy zewnątrzlaboratoryjnej kontroli jakości (tzw. badania biegłości potwierdzające jakość pracy laboratorium) muszą zapewniać zarówno próbki matrycy nastrzykiwane oznaczanym lekiem w znanym stężeniu, jak i spulowane próbki biologiczne pochodzące od osób leczonych [2, 4, 5].

Właściwa interpretacja wyniku przez diagnostę laboratoryjnego możliwa jest wyłącznie w oparciu o wiedzę na temat prowadzonej terapii (leki, dawkowanie) i stanu klinicznego pacjenta (skuteczność, działania niepożądane, dane demograficzne), którą przekazuje lekarz (skierowanie, informacja ustna) i niekiedy sam pacjent. Zlecenie badania w ramach TDM zawierające jedynie dane ewidencyjne pacjenta i nazwę oznaczanego leku bez tych dodatkowych informacji uniemożliwia najpierw weryfikację poprawności pobrania próbki, a później jakąkolwiek interpretację wyniku przez diagnostę. Według IATDMCT, wykonywanie w TDM analiz podających sam "gołe" wynik („*numbers only*"), bez odpowiedniej jego interpretacji i zaleceń terapeutycznych oprócz wspomnianego ryzyka błędnych decyzji terapeutycznych, generuje koszty dla opieki zdrowotnej, nie dając w zamian znaczących korzyści klinicznych [6, 7].

Ocena wyniku jest względnie prosta, gdy zmierzone stężenie mieści się w zakresie terapeutycznym, jest na poziomie wartości mierzonych u tego pacjenta wcześniej, a lekarz prowadzący nie informuje o braku skuteczności, ani istotnych działaniach niepożądanych. Inaczej, gdy wynik „nie pasuje" do podawanej dawki, poprzednich pomiarów kontrolnych, stanu klinicznego chorego, a wykluczyliśmy możliwość błędu przed- i wewnątrzlaboratoryjnego. Sytuacja jest intuicyjnie czytelna, gdy mamy do czynienia z wysokimi, potencjalnie toksycznymi stężeniami. Podejrzewamy przedawkowanie: przypadkowe, celowe lub w efekcie interakcji i naturalnym postępowaniem jest pilne przekazanie wyniku z odpowiednią

sugestią dotyczącą redukcji dawki lub całkowitego odstawienia leku, która, jak zakładamy, zostaje wdrożona przez lekarza (po ocenie stanu pacjenta). Niskie, subterapeutyczne stężenie leku nie powinno być traktowane z mniejszą uwagą jako rzekomo mniej niebezpieczne dla chorego. Może wynikać z interakcji, ze zbyt niskiej dawki, ale często również z nieregularnego przyjmowania leku; zwłaszcza stężenie poniżej progu LLOQ może wskazywać na brak adherencji pacjenta. W terapii ratującej życie (np. leczenie immunosupresyjne, antybiotykoterapia) takie "nieleczenie" jest bardziej niebezpieczne niż uniknięcie toksycznego działania leku. Stąd "dziwny" niski wynik zmierzony w ramach TDM, przykładowo C_{min} kwasu walproinowego = 5 µg/ml (zakres terapeutyczny: 50–100 µg/ml), nie powinien zostać zlekceważony jako "nieszkodliwy" i nie powinien zostać wydany z MLD bez próby wyjaśnienia i komentarza.

Przy interpretacji wyniku badania w TDM ważną rolę odgrywa stan narządu odpowiedzialnego za usuwanie ksenobiotyku z ustroju. Dla wielu substancji szczególnie istotna jest funkcja nerek, warunkująca skuteczne usuwanie leku z moczem. Niewydolność nerek może być przyczyną stężeń toksycznych np. digoksyny czy wankomycyny i jest farmakokinetycznym wyzwaniem przy ustalaniu u takiego chorego optymalnej dla niego dawki i przedziału dawkowania.

Wielki wpływ na stężenie monitorowanego leku mogą mieć interakcje w fazie farmakokinetycznej, spotykane głównie, choć nie wyłącznie, w fazie metabolizmu. Zależnie od mechanizmu konkretnej interakcji możemy oczekiwać spadku, bądź wzrostu poziomu stężenia monitorowanego leku. Wymiar interakcji może być niewielki, ale możemy także odnotować co najmniej kilkukrotny wzrost stężenia analizowanego leku, który naraża pacjenta na toksyczne działania niepożądane. Taka sytuacja ma miejsce w przypadku dołączenia do terapii immunosupresyjnej leku przeciwgrzybiczego z grupy azoli (np. ketokonazol do stosowanej przewlekle cyklosporyny). Badania autora wykazały, że gdy u pacjenta po transplantacji serca leczonego takrolimusem wdrożona zostaje klasyczna terapia eradykacyjna *Helicobacter pylori* z zastosowaniem klarytromycyny (inhibitor izoenzymu CYP3A4/5) – stężenie Cmin takrolimusu wzrasta około 7-krotnie niosąc konieczność odpowiedniej redukcji dawki leku immunosupresyjnego [8].

Może stanowić pewne zaskoczenie fakt, że występują w TDM przypadki, gdy wynik może być traktowany jako prawidłowy lub nie, w zależności od celu badania. Jeśli oznaczamy stężenie digoksyny w surowicy krwi u chorego z prawidłową funkcją nerek i wynik wynosi <LLOQ, to w przypadku rutynowej kontroli leczenia jest to wynik nieadekwatny, nieprawidłowy (wcześniej należy odrzucić mozliwość błędu przedlaboratoryjnego) wynikający prawdopodobnie ze zbyt niskiej dawki lub braku adherencji; ale jeśli celem badania jest ocena usuwania digoksyny po odstawieniu leku np. przed kardiowersją lub zmianą leczenia, to interpretujemy taki wynik oznaczenia jako prawidłowy; wówczas jednak cel badania musi zostać a priori jednoznacznie sformułowany.

Finalnie, interpretacja wyniku może zawierać sugestie ze strony diagnosty dotyczące ewentualnych zmian w leczeniu, szczególnie: zwiększenia lub zmniejszenia podawanej dawki dobowej, jednorazowej, zmiany przedziału dawkowania. Cenna dla lekarza prowadzącego powinna być informacja, czy z farmakokinetycznego punktu widzenia możliwe jest bezpieczne zwiększenie dawki stosowanego leku. Jeśli leczenie nie jest skuteczne pomimo stężeń leżących na górnej granicy zakresu terapeutycznego diagnosta może zasugerować zmianę substancji leczniczej. Wszystkie te działania wpisują się w strategię indywidualizacji farmakoterapii i promowanej obecnie medycyny spersonalizowanej [6].

Aby prowadzenie TDM było źródłem sukcesów terapeutycznych, nie zaś konfliktów i niepowodzeń, konieczna jest bliska i wyrozumiała współpraca pomiędzy kliniką a laboratorium połączona z nieustanną edukacją wszystkich zainteresowanych stron. ●



Piśmiennictwo:

[1] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 21 stycznia 2009 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych. Dz.U. 2009 nr 22 poz. 128.

[2] Seger C., Shipkova M., Christians U., Billaud E.M., Wang P., Holt D.W., Brunet M., Kunicki P.K., Pawiński T., Langman L., Marquet P., Oellerich M., Wieland E., Wallemacq P., *Assuring the proper analytical performance of measurement procedures for immunosuppressive drug concentrations in clinical practice: Recommendations of the IATDMCT Immunosuppressive Drugs Scientific Committee*, Ther. Drug Monit. 2016; 38 (2): 170–189.

[3] Zhang Y., Zhang R., *Recent advances in analytical methods for the therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs*, Drug Test Anal. 2018;10 (1): 81–94.

[4] Shipkova M., Svinarov D., *LC-MS/MS as a tool for TDM services: Where are we?* Clin Biochem. 2016; 49 (13–14): 1009–23.

[5] Kunicki P.K., *Analytical methods of measurement for immunosuppressive drug concentrations 15th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology*, Kyoto, 24–28.09.2017.

[6] Oellerich M., Dasgupta A., (ed.) *Personalized Immunosuppression in Transplantation: Role of Biomarker Monitoring and Therapeutic Drug Monitoring*, Elsevier, San Diego, 2016.

[7] Touw D.J, Neef C., Thomson A.H., Vinks A.A., *Cost-effectiveness of therapeutic drug monitoring: a systematic review*, Ther Drug Monit. 2005; 27 (1): 10–17.

[8] Kunicki P.K., Sobieszczańska-Małek M., *Pharmacokinetic interaction between tacrolimus and clarithromycin in a heart transplant patient*, Ther. Drug Monit. 2005; 27 (1): 107–108.



● **Paweł Zmora**[1]
pzmora@ibch.poznan.pl



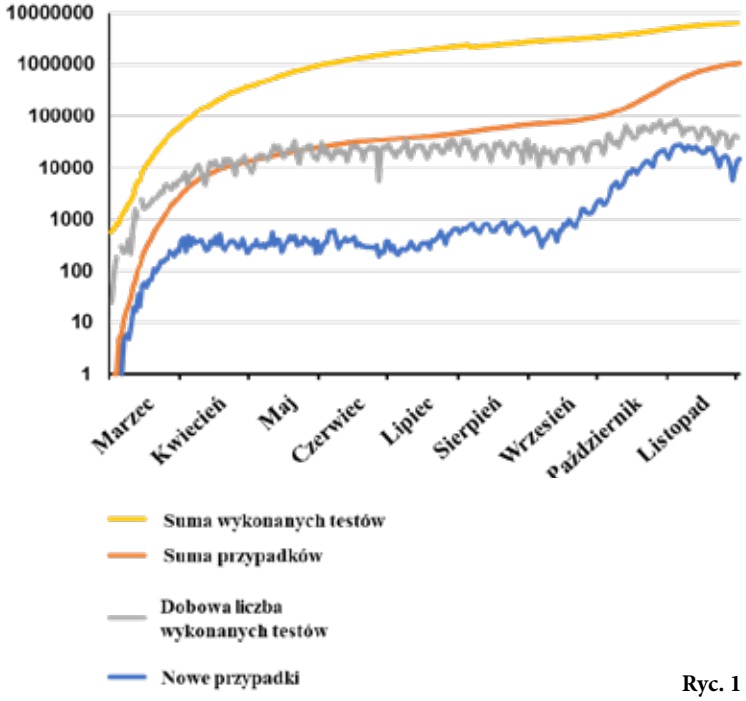
● **Elżbieta Lenartowicz**[1]

[1] Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk

DIAGNOSTYKA ZAKAŻENIA WIRUSEM SARS-COV-2

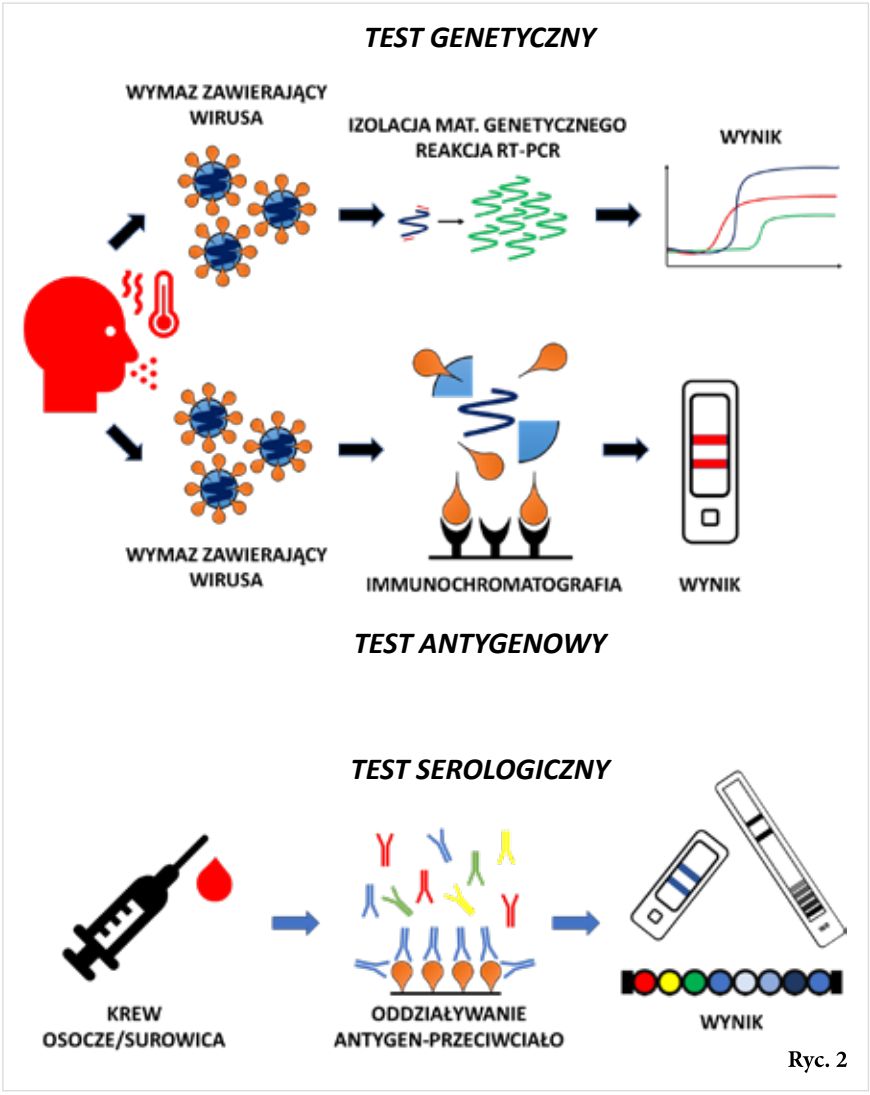
AKTUALNY STAN WIEDZY ORAZ PERSPEKTYWY ROZWOJU

Gwałtowne rozprzestrzenianie się wirusa SARS-CoV-2 (ang. *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) dotknęło prawie wszystkie kraje na świecie. Od czasu pierwszego zgłoszonego przypadku SARS-CoV-2 w grudniu 2019 r. w Wuhan w Chinach, do Światowej Organizacji Zdrowia zaraportowano prawie 68,3 mln potwierdzonych przypadków zakażenia i ponad 1,56 mln zgonów (stan na 09.12.2020 r.) [1]. W tym samym czasie w Polsce zdiagnozowano ponad 1,09 mln przypadków zachorowań na COVID19, z czego 21 160 osób zmarło (Rycina 1) [2]. Choroba wywoływana przez wirusa SARS-CoV-2 nazywana jest COVID-19 i objawia się głównie problemami z oddychaniem, gorączką, biegunką, brakiem smaku i węchu, złym samopoczuciem oraz suchym kaszlem. Z nieznanych przyczyn, zakażenie wirusem SARS-CoV-2 może przebiegać bezobjawowo lub łagodnie, a w niektórych przypadkach choroba ta może mieć ciężki przebieg i może prowadzić do nagłej ostrej niewydolności oddechowej oraz śmierci [3]. W większości przypadków choroba COVID-19 manifestuje się podwyższoną temperaturą ciała (powyżej 38°C), suchym kaszlem, ogólnym zmęczeniem i osłabieniem oraz gwałtowną



Ryc. 1

utratą zmysłu smaku oraz węchu. Ze względu na niecharakterystyczne symptomy, które spotykane są w wielu innych jednostkach chorobowych, takich jak chociażby przeziębienie czy grypa, w celu diagnozy niezbędne jest wykonanie dodatkowych testów laboratoryjnych. Od czasu rozpoczęcia pandemii COVID-19, w Polsce wykonano ponad 6,5 miliona testów, ze średnią dzienną liczbą testów na poziomie 22 tysięcy (Rycina 1) [2]. Obecnie, w diagnostyce zakażenia wirusem SARS-CoV-2, stosuje się 3 typy testów: testy genetyczne oparte o reakcję PCR w czasie rzeczywistym, testy antygenowe oraz testy serologiczne (Rycina 2).



Ryc. 2

Testy genetyczne oparte o reakcję PCR w czasie rzeczywistym

Testy genetyczne oparte o reakcję PCR w czasie rzeczywistym (qPCR) stosowane są w diagnostyce wielu chorób od lat. Na przykład, qPCR znalazł zastosowanie w wirusologii i jest uważany za złoty standard diagnostyki zakażeń takimi wirusami jak wirus zapalenia wątroby typu C czy też wirus HIV. Dodatkowo qPCR rozwinął badania epidemiologiczne i pozwolił między innymi na genotypowanie patogenów, obliczenie ilości wirusa w pobranym materiale oraz kontrolowanie odpowiedzi organizmu na terapię antywirusową [4].

Należy podkreślić, iż qPCR odgrywa również ważną rolę w procesie diagnostycznym chorób bakteryjnych. Pomimo, że złotym standardem nadal pozostają hodowle bakteryjne (pracochłonne i czasochłonne), coraz częściej, szczególnie w nagłych przypadkach stosuje się metody amplifikacji materiału genetycznego, które pozwalają na uzyskanie wyniku w ciągu kilku godzin od dostarczenia badanego materiału do laboratorium [5]. Ponadto, na rynku dostępne są testy oparte o metodę qPCR, nie tylko identyfikujące dany genotyp bakterii, ale również sprawdzające antybiotykoodporność poszczególnych bakterii znajdujących się w próbkach klinicznych.

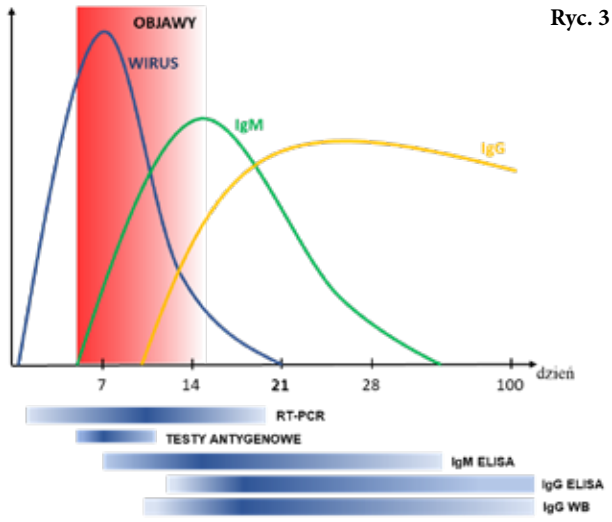
Łańcuchowa reakcja polimerazy w czasie rzeczywistym (ang. *real time polymerase chain reacction – real time PCR, qPCR*) jest stosunkowo nową metodą stosowaną w diagnostyce molekularnej (została ona opracowana na początku lat 90. XX wieku). Metoda ta polega na cyklicznej amplifikacji (powieleniu) fragmentów DNA przy wykorzystaniu gatunkowo-specyficznych starterów i wyznakowanych fluorescencyjnie sond oraz obserwacji zmiany fluorescencji po każdym cyklu reakcji. Intensywność sygnału fluorescencji jest wprost proporcjonalna do ilości DNA w badanej próbie w danym momencie. Moment, w którym poziom fluorescencji wzrasta powyżej poziomu detekcji jest wprost proporcjonalny do początkowej ilości matrycy w reakcji oraz określany jest mianem „quantification cycle" – cq. Wartość cq pozwala na absolutną (w odniesieniu do krzywej standardowej) lub częściową kalkulację (w odniesieniu do kontroli pozytywnej reakcji) ilości docelowego materiału genetycznego w próbie [5].

W przypadku diagnostyki zakażenia wirusami posiadającymi materiał genetyczny w postaci RNA niezbędne jest przeprowadzenie dodatkowego etapu, tj. odwrotnej transkrypcji (and. *reverse transcription, RT*) podczas którego dochodzi do przepisania wirusowego RNA na DNA, które z kolei może być użyte w reakcji PCR [4]. Rozwój nauki i technologii, m.in. modyfikacja enzymów wykorzystywanych w reakcji PCR, pozwoliła na połączenie obu reakcji i stworzenie podstaw do testu RT-PCR, wykorzystywanego między innymi przy detekcji wirusów dróg oddechowych.

Jednymi z największych zalet metody qPCR są szybkość i wysoka przepustowość. Ponadto, należy podkreślić uniwersalność tej metody – detekcji oraz analizy ilościowej docelowej sekwencji DNA można dokonać w rożnym materiale klinicznym, np. w wymazie,

krwi czy stolcu. Poprzez dodanie kontroli wewnętrznej, metoda qPCR umożliwia również analizę poszczególnych etapów badania, sprawdzenie jakości pobranego materiału, wydajności izolacji materiału genetycznego, czy też obecności inhibitorów reakcji [6]. Jednak każda metoda ma swoje ograniczenia i wady. W przypadku qPCR niezbędne jest wykonanie reakcji w laboratorium przez wyspecjalizowany personel oraz z zastosowaniem kosztownej aparatury. Ponadto, qPCR charakteryzuje się tzw. limitem detekcji, tj. ilością kopii materiału genetycznego która gwarantuje pozytywny wynik reakcji [6]. Z tego względu oraz mając na uwadze specyfikę cyklu replikacyjnego wirusa SARS-CoV-2, ważne jest, aby wymaz w kierunku COVID19 został wykonany nie wcześniej niż w drugim dniu po kontakcie z osobą zakażoną (najlepiej 5–7 dzień) (Rycina 3). W innym przypadku możliwy jest negatywny wynik reakcji qPCR, mimo iż wirus namnaża się w organizmie pacjenta, tzw. wynik fałszywie ujemny.

Ryc. 3



MediPAN SARS-CoV 2G+ FAST

Pandemia koronawirusa SARS-CoV-2 spowodowała nagły rozwój testów molekularnych opartych o amplifikację kwasów nukleinowych. Obecnie na światowym rynku jest ponad 350 testów. Duże zapotrzebowanie na testy, oraz obawa o utrudnienie łańcucha dostaw ze względu na trwającą pandemię zmobilizowała naukowców Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, do opracowania autorskiego testu, który pozwala na usamodzielnienie się Polski w dostawie testów. Obecnie na rynku dostępna jest 4 generacja testu (MediPAN SARS-CoV 2G+ FAST), która otrzymała certyfikat CE-IVD. W jednej reakcji możliwa jest analiza dwóch specyficznych genów wirusa SARS-CoV-2 (ORF1ab [nsp2] oraz S) oraz identyfikacja RNA kontrolnego (IC – internal control). Czułość analityczna zestawu sięga 5 kopii RNA wirusowego w pojedynczej reakcji. Test wykazuje 99% czułości i swoistości klinicznej w porównaniu do innych komercyjnie dostępnych testów diagnostycznych. Ponadto, test MediPAN SARS-CoV-2 2G+ FAST charakteryzuje się krótkim czasem reakcji, reakcja RT-PCR trwa około 1 godziny w zależności od zastosowanego termocyklera.

Testy antygenowe

Ze względu na skalę pandemii COVID19, konieczność wykonywania dziesiątek tysięcy testów oraz związanych z tym kosztów, w ostatnim czasie w diagnostyce zakażenia wirusem SARS-CoV-2 dopuszczono możliwość stosowania testów antygenowych. Dotychczas, testy antygenowe stosowano głównie w badaniach przesiewowych w kierunku zakażeń wirusem HIV, grypy czy też gruźlicy. Przy czym, należy podkreślić, iż wynik wymienionych testów antygenowych należy potwierdzić np. testem genetycznym opartym o reakcję PCR.

Testy antygenowe służą do bezpośredniej detekcji białek powierzchniowych wirusa SARS-CoV-2 i najczęściej oparte są o metodę immunochromatografii. W skład zestawu wchodzi kasetka z otworem na badaną próbę oraz bufor reakcyjny, a także membrana nitrocelulozowa, na której w dwóch liniach unieruchomiony zostaje odpowiedni kompleks przeciwciał: 1. pierwszy pasek przeciwciała przeciwko badanemu patogenowi, 2. przeciwciała kontrolne. W przypadku wirusa SARS-CoV-2 najczęściej stosuje się przeciwciała ukierunkowane na białka powierzchniowe kapsydu, które występują w relatywnie największej ilości w górnych drogach oddechowych [7].

Jednakże, w porównaniu z wcześniej omawianymi testami genetycznymi opartymi o reakcję PCR, testy antygenowe charakteryzują się niższą czułością i swoistością. Warto również wspomnieć, iż zgodnie z rekomendacjami producentów, czułość testów antygenowych jest wyższa w pierwszych dniach występowania objawów chorobowych [7]. Z drugiej strony, należy pamiętać, iż wynik testu dostępny jest w ciągu 5-15 minut od wykonania wymazu i nałożeniu badanej próby na kasetkę, co jest zdecydowaną zaletą tego typu analiz. Ponadto, łatwość przeprowadzenia analizy umożliwia stosowanie testów antygenowych poza laboratorium diagnostycznym, np. przy łóżku pacjenta [7]. Czynniki te sprawiają, że testy antygenowe są istotnym narzędziem diagnostycznym w przypadku pacjentów z objawami, których decyzja diagnostyczna wymaga szybkiego działania.

Testy serologiczne w COVID-19

Innym rodzajem testów wykorzystywanym w diagnostyce COVID-19 są testy serologiczne. W odróżnieniu od opisywanych wcześniej testów genetycznych i antygenowych, testy serologiczne nie stwierdzają obecności samego czynnika chorobotwórczego (wirusa, bakterii, grzybów), a obecność przeciwciał przeciwko danemu patogenowi, np. wirusowi SARS-CoV-2. Przeciwciała produkowane są przez limfocyty B oraz komórki plazmatyczne na skutek kontaktu organizmu z danym patogenem. Wyróżniamy 5 klas przeciwciał: IgA (immunoglobuliny wydzielnicze obecne w błonach śluzowych), IgD (immunoglobuliny receptorowe), IgE (immunoglobuliny odpowiedzialne za reakcje alergiczne), IgG (immunoglobuliny tzw. trwałej odporności) oraz IgM (immunoglobuliny tzw. wczesnej odporności). Ze względu na wytwarzanie różnych klas przeciwciał w poszczególnych etapach infekcji, stwierdzenie ich obecności może świadczyć m.in. o stopniu zaawansowania choroby oraz może wskazywać kiedy doszło do zakażenia. Stąd w diagnostyce laboratoryjnej COVID-19 oznacza

się najczęściej przeciwciała klasy IgM oraz IgG [3, 8]. Ze względu na fakt, iż SARS-CoV-2 jest wirusem dróg oddechowych, a tym samym ma kontakt z błonami śluzowymi, wykazano, iż również analiza obecności przeciwciał klasy IgA ma pewną ograniczoną wartość diagnostyczną. Czas wyprodukowania przeciwciał przez organizm, czyli serokonwersja, jest kwestią osobniczą i jest różny dla poszczególnych klas przeciwciał. W przypadku wcześniejszego szczepu wirusa SARS-CoV-1 przeciwciała w klasie M (IgM) były wykrywane ok. 3-6 dnia od wystąpienia objawów, a następnie pojawiały się przeciwciała w klasie G (IgG) – od ok. 8 dnia. Dotychczasowe badania wykazały, że taka kolejność serokonwersji, ogólnie typowa w przypadku rozwoju odpowiedzi immunologicznej, nie zachodzi w przypadku SARS-CoV-2, prawdopodobnie ze względu na długi okres bezobjawowy. Przeciwciała IgG w COVID-19 pojawiają się w podobnym czasie jak przeciwciała IgM, jednak w wyższych stężeniach niż IgM i utrzymują najwyższy poziom dłużej niż IgM (do 5 tyg vs do 7 tyg.). Dodatkowo przeciwciała IgG obniżają się w wolniejszym tempie niż przeciwciała IgM (Rycina 3). W badaniu retrospektywnym dla wyników od 1850 chorych, po pierwszym tygodniu od pojawienia się objawów przeciwciała IgM wykrywano u 39,6% badanych, a przeciwciała IgG wykrywano u 70,8% chorych. Natomiast po 5 tygodniach przeciwciała IgG potwierdzono u 95,3% chorych [9]. W związku z powyższym dotychczasowe badania nie wykazują przewagi zastosowania innej niż IgG klasy przeciwciał w testach serologicznych we wszystkich etapach diagnostyki.

Testy serologiczne są powszechnie stosowane jako badania przesiewowe w diagnostyce wirusowego zapalenia wątroby typu C czy zakażenia wirusem HIV. Należy jednak pamiętać, iż dodatni wynik testów serologicznych w tych przypadkach należy potwierdzić za pomocą testów genetycznych opartych o reakcję PCR. Natomiast ze względu na specyfikę oraz przebieg chorób pasożytniczych, badania serologiczne mają duże znaczenie w diagnostyce włośnicy, bąblowicy czy też toksokarozy. W ostatnim czasie, testy serologiczne zyskały również bardzo dużą popularność w diagnostyce boreliozy z Lyme [10]. Nie należy również zapominać, iż badania obecności przeciwciał mają nieocenione znaczenie przy określaniu bezobjawowego bądź skąpoobjawowego zakażenia wirusem Epstein-Barr (EBV) oraz cytomegalowirusem (CMV).

W chwili obecnej na rynku dostępne są 3 główne rodzaje testów wykorzystywanych w laboratoriach diagnostycznych: (i) testy immunoenzymatyczne, (ii) testy immunochromatograficzne, tzw. testy kasetkowe, oraz (iii) testy Western blot. Cechą wspólną wymienionych analiz jest zastosowanie rekombinowanego antygenu bądź jego fragmentu na odpowiednim podłożu, które umożliwia interakcję antygen-przeciwciało, oraz wizualizacja tego oddziaływania za pomocą odpowiednich związków chemicznych. Ponadto, wyróżnia się (iv) testy neutralizacji (TN) oraz (v) testy immunofluorescencji pośredniej (IFA). Oba wymienione testy wymagają pracy z aktywnym wirusem, a co za tym idzie nie są rutynowo stosowane w laboratoriach diagnostycznych [11–13].

Jak wspominano w powyższych paragrafach, obecnie diagnostyka zakażenia wirusem SARS-CoV-2 opiera się głównie na badaniu obecności materiału genetycznego wirusa za pomocą reakcji RT-PCR. Należy jednak pamiętać, iż wyniki tych badań zależą od wielu czynników, w tym od miejsca pobrania próbki oraz jej rodzaju i jakości. Również stan pacjenta oraz warunki przechowywania próbek mają istotne znaczenie. Specyfika reakcji PCR pozwala również na uzyskanie tzw. wyników fałszywie dodatnich (zazwyczaj na skutek kontaminacji próbki) oraz wyników fałszywie ujemnych (zazwyczaj na skutek złego przechowywania pobranego materiału lub zbyt wczesnego pobrania materiału) [11]. Co więcej, należy podkreślić iż testy wykrywające materiał genetyczny RNA wirusa, jak również testy antygenowe sprawdzają się jedynie w diagnostyce aktywnej fazy zakażenia, kiedy to wirusowe RNA bądź też same cząstki wirusowe są obecne w materiale pobranym od pacjenta. Największą zaletą testów serologicznych jest umożliwienie diagnostyki retrospektywnej, czyli zweryfikowanie faktu zakażenia już po jego zwalczeniu przez układ odpornościowy. Co więcej, jest to główny sposób oceny zakażeń u osób bezobjawowych lub skąpoobjawowych, którzy rzadko są badani molekularnie [12]. Inną korzyścią ze stwierdzenia obecności przeciwciał może być ich potencjalne działanie ochronne przy ponownym zakażeniu wirusem SARS-CoV-2, nie mniej w przyszłych badaniach potrzebne jest potwierdzenie, czy obecność przeciwciał oraz to przeciwko którym antygenom wirusowym i w jakim stężeniu będzie dawało odporność [8, 13]. Analizy serologiczne w kierunku przebycia zakażenia wirusem SARS-CoV-2 wydają się również być bezcenne ze względu na potencjalne szczepienia przeciwko COVID-19.

Wykrywanie przeciwciał jest prostsze, szybsze i tańsze niż badanie obecności wirusowego RNA. Dodatkowo, w badaniach serologicznych wykorzystuje się najczęściej surowicę, która jest stabilniejsza i łatwiejsza do przechowywania w porównaniu z materiałem używanym do badań RT-PCR [13]. W związku z tym testy oznaczające stężenie przeciwciał mogą stanowić ważną uzupełniającą metodę diagnostyki COVID-19 m.in. jako narzędzie do diagnostyki retrospektywnej, badań populacyjnych, czy badań osób bezobjawowych w grupie ryzyka.

Ponadto, poza rodzajem wykrywanej klasy przeciwciał, przy wyborze testu serologicznego należy zwrócić uwagę na rodzaj antygenu wirusowego, przeciwko któremu wykrywane są przeciwciała w danym teście oraz na metodologię samego testu, która wpływa na jego wiarygodność.

Cząsteczkę wirusa SARS-CoV-2 budują 4 białka strukturalne:

- S – Białko kolca (ang. *spike*), glikoproteina powierzchniowa, homotrimer – odpowiedzialne za łącznie się z receptorem ACE2 na powierzchni komórek np. w płucach; wysoce immunogenne;
- N – Białko nukleokapsydu (ang. *nucleocapsid*) – chroni i organizuje materiał genetyczny wirusa – nić ssRNA; wysoce immunogenne;
- E – Białko płaszcza (ang. *envelope*) – tworzy otoczkę wirusa, pomaga przekroczyć błonę komórki-gospodarza;
- M – Białko membranowe (ang. *membrane*) – tworzy otoczkę wirusa i nadaje jej kształt.

Z punktu widzenia diagnostyki istotne jest białko N oraz białko S, a dokładniej jego podjednostka S1, a w niej domena wiążąca receptor, czyli RBD. Testy serologiczne jako markery najczęściej wykorzystują białko N, podjednostkę S1 lub sam fragment RBD. Jak już wcześniej wspominano, spośród strukturalnych białek wiruso-

wych to białko nukleokapsydu jest produkowane w największych ilościach i w związku z tym jest dobrym kandydatem w diagnostyce serologicznej i szczepieniu, natomiast białko S1 jest najbardziej swoiste dla wirusa SARS-CoV-2 [11, 13]. Badanie obu markerów pozwala zwiększyć czułość badania, szczególnie we wczesnej fazie odpowiedzi immunologicznej, kiedy to można spodziewać się większej czułości dla przeciwciał swoistych wobec białka nukleokapsydu.

Badania serologiczne wykazały również, że stężenie i rodzaj przeciwciał jest odmienny w zależności od przebiegu choroby. Osoby bezobjawowe lub skąpoobjawowe wykazują niższe stężenia przeciwciał, które pojawiają się szybciej i szybciej spadają niż u osób o ostrym przebiegu choroby. Dodatkowo istotnie wyższe poziomy przeciwciał IgG obserwowano u chorych w starszym wieku, co wskazuje na większy stopień aktywacji układu immunologicznego w tej grupie. Niskie stężenia przeciwciał IgG wykrywano natomiast u chorych o obniżonym odsetku limfocytów, a podwyższonym neutrofilów, co wiązało się ogólnie z gorszym rokowaniem. Stwierdzono również, że osoby o niskim stężeniu przeciwciał dłużej pozostawali w fazie aktywnej chorobie, przez co dłużej wykrywano u nich wirusa w pobieranych próbkach [9].

Przytoczone dane jednoznacznie wskazują, że czułość testów, a co za tym idzie najniższe możliwe stężenie przeciwciał wykrywane w danej metodzie, powinno być jednym z najważniejszych kryteriów wyboru. Stąd najlepszym wyborem wydają się być testy ilościowe badające dokładne stężenie przeciwciał i charakteryzujące się wysokimi wartościami czułości i swoistości [8, 13]. Natomiast w tzw. szybkich testach wykorzystywana jest metoda chromatograficzna, dająca wynik jakościowy, o stosunkowo niskiej czułości. Dlatego też, uzyskane w ten sposób wyniki warto potwierdzać metodami bardziej zaawansowanymi czyli pochodnymi techniki ELISA i/lub chemiluminescencji. Szczególną uwagę warto zwrócić na testy oparte o fazę stałą, tzw. testy immunoblot. Ze względu na dużą swoistość oraz możliwość weryfikacji (przez osobę wykonującą badanie) jakości i poprawności wyniku na teście pozwalają one na większą wiarygodność wyniku szczególnie w przypadku wyników granicznych. Co więcej, testy immunoblot mogą służyć do określenia dokładnego ilościowego stężenia przeciwciał dla więcej niż jednego antygenu wirusa oraz mogą być zastosowane w celu potwierdzenia pozytywnego lub granicznego wyniku testu przesiewowego czy też testu opartego o metodę ELISA [8].

Istnieje wiele precedensów, w których po wstępnym dodatnim wyniku testu serologicznego należy zastosować dodatkowy potwierdzający test o optymalnej swoistości, typu immunoblot. Przykładem może być diagnostyka w kierunku zakażenia wirusem HIV jak również diagnostyka boreliozy. Obecnie najczęściej stosowaną metodą referencyjną do diagnostyki laboratoryjnej boreliozy jest diagnostyka dwuetapowa. W pierwszym etapie oznacza się stężenie przeciwciał przy użyciu enzymatycznego testu immunologicznego typu EIA lub ELISA, a w drugim etapie wykonuje się test typu immunoblot [10].

W związku z powyższym oraz mając na uwadze kluczowe szczegóły budowy testów typu immunoblot, testy tego rodzaju mają dwojakie zastosowanie w diagnostyce przebycia zakażenia wirusem SARS-CoV-2. Po pierwsze ilościowe testy typu immunoblot mogą służyć do ilościowego oznaczenia stężenia przeciwciał, po drugie po uzyskaniu wyniku dodatniego lub granicznego w teście typu ELISA mogą one służyć do potwierdzenia tego wyniku [8].

Wnioski

1. Podstawową metodą w diagnostyce aktywnego zakażenia SARS-CoV-2 są testy genetyczne oparte o reakcję RT-PCR w czasie rzeczywistym.
2. Testy serologiczne służą przede wszystkim do retrospektywnego stwierdzenia przebycia zakażenia wirusem SARS-CoV-2.
3. Przy wyborze testów serologicznych należy zwrócić uwagę na rodzaj testów oraz na to jakie antygeny zostały w nim zastosowane.
4. **W celu potwierdzenia wyników uzyskanych przy pomocy testów przesiewowych lub testów opartych o metody takie jak: ELISA, ECLIA, CLIA rekomendujemy stosowanie ilościowego testu potwierdzenia typu immunoblot.** ●

Piśmiennictwo:

[1] WHO | World Health Organization [Internet]. [cited 2020 Dec 9]. Available from: https://www.who.int/

[2] Ministerstwo Zdrowia – Portal Gov.pl [Internet]. [cited 2020 Dec 9]. Available from: https://www.gov.pl/web/zdrowie

[3] Bar-On YM, Flamholz A, Phillips R, Milo R. *Sars-cov-2 (Covid-19) by the numbers.* Elife [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2020 Dec 9];9. Available from: /pmc/articles/PMC7224694/?report=abstract

[4] Watzinger F, Ebner K, Lion T. *Detection and monitoring of virus infections by real-time PCR* [Internet]. Vol. 27, Molecular Aspects of Medicine. Mol Aspects Med; 2006 [cited 2020 Dec 9]. p. 254–98. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16481036/

[5] Kralik P, Ricchi M. *A basic guide to real time PCR in microbial diagnostics: Definitions, parameters, and everything* [Internet]. Vol. 8, Frontiers in Microbiology. Frontiers Research Foundation; 2017 [cited 2020 Dec 9]. p. 108. Available from: /pmc/articles/PMC5288344/?report=abstract

[6] Murphy J, Bustin SA. *Reliability of real-time reverse-transcription PCR in clinical diagnostics: Gold standard or substandard?* [Internet]. Vol. 9, Expert Review of Molecular Diagnostics. Expert Rev Mol Diagn; 2009 [cited 2020 Dec 9]. p. 187–97. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19298142/

[7] *Options for the use of rapid antigen tests for COVID-19 in the EU/EEA and the UK* [Internet]. [cited 2020 Dec 9]. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/options-use-rapid-antigen-tests-covid-19-eueea-and-uk

[8] Pavia CS, Wormser GP. *COVID-19: Is there a role for Western blots and skin testing for determining immunity and development of a vaccine?* [Internet]. Vol. 98, Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. Elsevier Inc.; 2020 [cited 2020 Dec 9]. p. 115148. Available from: /pmc/articles/PMC7424330/?report=abstract

[9] Li K, Huang B, Wu M, Zhong A, Li L, Cai Y, et al. *Dynamic changes in anti-SARS-CoV-2 antibodies during SARS-CoV-2 infection and recovery from COVID-19.* Nat Commun. 2020 Dec 1;11(1).

[10] Hatchette T, Lindsay R. *Modified two-tiered testing algorithm for Lyme disease serology: the Canadian context. Canada Commun Dis Rep* [Internet]. 2020 May 7 [cited 2020 Dec 9];46(5):125–31. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32558809/

[11] Lisboa Bastos M, Tavaziva G, Abidi SK, Campbell JR, Haraoui LP, Johnston JC, et al. *Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: Systematic review and meta-analysis.* BMJ [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2020 Dec 9];370:2516. Available from: https://connect.medrxiv.org/relate/content/181

12] Peeling RW, Wedderburn CJ, Garcia PJ, Boeras D, Fongwen N, Nkengasong J, et al. *Serology testing in the COVID-19 pandemic response* [Internet]. Vol. 20, The Lancet Infectious Diseases. Lancet Publishing Group; 2020 [cited 2020 Dec 9]. p. e245–9. Available from: www.thelancet.com/infection

[13] Bond K, Williams E, Howden BP, Williamson DA. *Serological tests for COVID-19.* Med J Aust [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2020 Dec 9];213(9):397-399.e1. Available from: https://www.mja.com.au/journal/2020/213/9/serological-tests-covid-19

POLYCHECK®
Diagnostics made in Germany

WIARYGODNA DIAGNOSTYKA PO INFEKCJI SARS-CoV-2!

Polycheck® **Anty-SARS-CoV-2 IgG**

Fosfoproteina nukleokapsydu,
białko osłaniające RNA wirusa

Białko kolca - podjednostka S1,
białko powierzchniowe, odpowiedzialne za wiązanie wirusa do komórek gospodarza



Test Polycheck®
Anty-SARS-CoV-2 IgG

- ☑ *to **ilościowe oznaczenie metodą immunoblot***
- ☑ *jest zgodny z **zaleceniami w COVID-19**[1]*
- ☑ *oznacza przeciwciała wobec **2 antygenów wirusa***
- ☑ *wskazuje na **przebytą infekcję** wirusem*
- ☑ *czułość **98,6%**, swoistość **98,7%***

[1]Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji, *Zalecenia w COVID-19, Wersja 1.1 - 25.04.2020 r.*, www.aotm.gov.pl/www/zalecenia-covid-19/ [dostęp z dnia 02.09.2020]; [2]Polycheck® Infection Serology, https://polycheck.de/ [dostęp z dnia 28.07.2020]

Generalny dystrybutor **Polycheck®**
EMMA
Medical Diagnostic Tests



r.pr. Jarosław Kamiński
Prawnik Sądu Dyscyplinarnego KIDL

SKIEROWANIE DIAGNOSTY LABORATORYJNEGO DO PRACY PRZY ZWALCZANIU EPIDEMII

Zasada wolności pracy

Pacjentów z COVID-19 przybywa, a problem, który dotyczy zapewnienia im warunków leczenia to nie jedynie problem łóżek i sprzętu czy leków, ale przede wszystkim personelu. Zgodnie z art. 65 ust. 1 ustawy zasadniczej tj. Konstytucji Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 2 kwietnia 1997 r. (Dz.U. Nr. 78, poz. 483, z późn. zm.) każdemu zapewnia się wolność wyboru i wykonywania zawodu oraz wyboru miejsca pracy. To generalna zasada, od której jednak wyjątki określać może ustawa.

Wyjątek od zasady wyboru i wykonywania zawodu oraz wyboru miejsca pracy - obowiązek pracy został przewidziany w art. 47 ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi (Dz.U. z 2020 r., poz. 1845).



Skierowanie do pracy przy zwalczaniu epidemii może dotyczyć diagnosty laboratoryjnego

Zgodnie z art. 47 ust. 1 w/w ustawy pracownicy podmiotów leczniczych oraz osoby wykonujące zawody medyczne mogą być skierowani do pracy przy zwalczaniu epidemii. Do pracy mogą być skierowane także inne osoby, jeżeli ich skierowanie jest uzasadnione aktualnymi potrzebami. Z treści przepisu wynika zatem, że do pracy przy zwalczaniu epidemii mogą być, co do zasady kierowani również diagności laboratoryjni.

Podstawą decyzja bez uzasadnienia

Skierowanie następuje w drodze decyzji. Decyzję o skierowaniu do pracy na terenie województwa, w którym osoba skierowana posiada miejsce pobytu lub jest zatrudniona, wydaje właściwy wojewoda, a w razie skierowania do pracy na obszarze innego województwa – Minister Zdrowia. Decyzja może zostać przekazana w każdy możliwy sposób zapewniający dotarcie decyzji do adresata, w tym ustnie i nie wymaga uzasadnienia. Decyzja przekazana w sposób inny niż na piśmie jest następnie doręczana na piśmie. Decyzja wydawana jest na okres pracy nieprzekraczający 3 miesięcy.

Kto nie może zostać skierowany do pracy przy zwalczaniu epidemii?

Skierowaniu do pracy niosącej ryzyko zakażenia przy zwalczaniu epidemii nie podlegają:

1) osoby, które nie ukończyły 18 lat bądź ukończyły 60 lat w przypadku kobiet lub 65 lat w przypadku mężczyzn;
2) kobiety w ciąży;
3) osoby samotnie wychowujące dziecko w wieku do 18 lat;
4) osoby wychowujące dziecko w wieku do 14 lat, a w przypadku,

gdy dziecko w wieku powyżej 14 lat jest wychowywane przez dwoje rodziców, do pracy przy zwalczaniu epidemii może zostać skierowana wyłącznie jedna z nich;

5) osoby wychowujące dziecko z orzeczeniem o niepełnosprawności lub orzeczeniem o potrzebie kształcenia specjalnego;
6) osoby, u których orzeczono częściową lub całkowitą niezdolność do pracy;
7) inwalidzi i osoby z orzeczonymi chorobami przewlekłymi, na których przebieg ma wpływ zakażenie lub zachorowanie na chorobę zakaźną będącą przyczyną epidemii lub orzeczona choroba przewlekła ma wpływ na przebieg lub zachorowanie na chorobę zakaźną - orzeczenie w sprawie choroby wydaje lekarz orzecznik ZUS;
8) osoby, o których mowa w art. 2 ustawy z dnia 31 lipca 1981 r. o wynagrodzeniu osób zajmujących kierownicze stanowiska państwowe (Dz. U. z 2020 r. poz. 1637) czyli wysocy urzędnicy oraz posłowie i senatorowie Rzeczypospolitej Polskiej.

W przypadku, gdy dziecko w wieku do 18 lat jest wychowywane przez dwoje osób, którym przysługuje władza rodzicielska, do pracy przy zwalczaniu epidemii może zostać skierowana wyłącznie jedna z nich. Do pracy przy zwalczaniu epidemii może zostać skierowana osoba, o której mowa w pkt 1, 3 i 4 powyżej na swój wniosek złożony do wojewody. Nie wydaje się wówczas decyzji.

Odwołanie od decyzji nie wstrzymuje wykonania decyzji

Od decyzji o skierowaniu do pracy przy zwalczaniu epidemii przysługuje odwołanie do Ministra Zdrowia. W ramach postępowania w sprawie rozpatrzenia odwołania organ może wystąpić do konsultanta z danej dziedziny medycyny, której dotyczy choroba osoby kierowanej. Co istotne wniesienie środka odwoławczego nie wstrzymuje wykonania decyzji.

Kto zatrudnia pracownika skierowanego do pracy przy zwalczaniu epidemii?

Osobie skierowanej do pracy przy zwalczaniu epidemii dotychczasowy pracodawca jest obowiązany udzielić urlopu bezpłatnego, a podmiot leczniczy do którego dana osoba została skierowana podpisuje z nią umowę o pracę. Szczegółowe warunki umowy powinny zostać przekazane przez nowego pracodawcę przed dopuszczeniem do pracy.

Wynagrodzenie osoby skierowanej do pracy przy zwalczaniu epidemii

Osobie skierowanej do pracy na podstawie decyzji, przysługuje wynagrodzenie zasadnicze w wysokości nie niższej niż 200% przeciętnego wynagrodzenia zasadniczego przewidzianego na danym stanowisku pracy w zakładzie wskazanym w tej decyzji lub w innym podobnym zakładzie, jeżeli w zakładzie wskazanym nie ma takiego stanowiska. Wynagrodzenie nie może być niższe niż wynagrodzenie lub uposażenie zasadnicze wraz z dodatkami do uposażenia o charakterze stałym, które osoba skierowana do pracy przy zwalczaniu epidemii otrzymała w miesiącu poprzedzającym miesiąc, w którym wydana została decyzja o skierowaniu jej do pracy przy zwalczaniu epidemii.

Zwrot kosztów przejazdu i zakwaterowania

Osobie skierowanej do pracy przysługuje również zwrot kosztów przejazdu, zakwaterowania i wyżywienia, na zasadach podróży służbowych na obszarze kraju. Zwrot kosztów z tytułu zakwaterowania lub wyżywienia nie przysługuje w przypadku zapewnienia ich przez pracodawcę. Osobie skierowanej przysługuje również m.in. zwrot kosztów przejazdu w wysokości, która musi zostać udokumentowana biletami, rachunkami lub fakturami

Ochrona zatrudnienia u dotychczasowego pracodawcy osoby skierowanej do pracy

Przez czas trwania pracy na podstawie skierowania z osobą skierowaną do pracy przy zwalczaniu epidemii nie może być rozwiązany dotychczasowy stosunek pracy ani nie może być dokonane wypowiedzenie umowy o pracę, chyba że istnieje podstawa do rozwiązania umowy o pracę bez wypowiedzenia z winy pracownika albo w przypadku zmiany lub uchylenia decyzji. Aktualne natomiast pozostają przepisy kodeksu pracy, które dotyczą ewentualnego wygaśnięcia stosunku pracy.

Konsekwencje niewykonania decyzji

Ten kto w stanie zagrożenia epidemicznego lub stanu epidemii nie wykonuje decyzji wojewody albo ministra zdrowia o skierowaniu do pracy podlega karze pieniężnej w wysokości od 5000 zł do 30 000 zł. Karę wymierza odpowiednio wojewoda albo Minister Zdrowia. Jednocześnie ten kto nie wykonuje decyzji o skierowaniu do pracy przy zapobieganiu oraz zwalczaniu epidemii może ponieść odpowiedzialność karną i podlegać karze grzywny.

Obowiązki samorządu zawodowego

Pomimo zastrzeżeń samorządu diagnostów laboratoryjnych samorządy zawodów medycznych (w tym Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych) zobowiązane są do przekazania, na wniosek odpowiednio wojewody albo Ministra Zdrowia, w terminie 7 dni od dnia otrzymania wniosku, wykaz osób wykonujących zawody medyczne, które mogą być skierowane do pracy przy zwalczaniu epidemii, zawierający: imię, nazwisko, adres miejsca zamieszkania i numer prawa wykonywania zawodu medycznego.

Obowiązek pracy studentów, doktorantów i osób kształcących się

W przypadku ogłoszenia stanu zagrożenia epidemicznego lub stanu epidemii również studenci kierunków przygotowujących do wykonywania zawodu medycznego i doktoranci nauk medycznych, nauk farmaceutycznych i nauki o zdrowiu mogą brać udział w udzielaniu świadczeń zdrowotnych udzielanych w związku z ogłoszeniem stanu zagrożenia epidemicznego lub stanu epidemii, na podstawie decyzji o skierowaniu do pracy przy zwalczaniu epidemii. ●

Stan prawny na dzień 1 grudnia 2020 r.



dr n. prawn. Maciej Niezabitowski
Adwokat, Koordynator Zespołu Prawnego Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych, Wiceprzewodniczący Sekcji Prawa Medycznego i Farmaceutycznego Okręgowej Rady Adwokackiej w Warszawie

NAJNOWSZE ZMIANY W PRAWIE W ZWIĄZKU Z EPIDEMIĄ COVID-19

Epidemia wirusa SARS-CoV-2 zaskoczyła rządzących. Nieprzygotowanie do zaistniałej sytuacji, wymusiło szybkie wprowadzanie szeregu nowych rozwiązań prawnych, które mają zabezpieczyć prawidłowość funkcjonowania podmiotów w różnych dziedzinach życia publicznego. W tym obszaru systemu ochrony zdrowia. Przepisy wprowadzane są na szybko, a ich sposób procedowania wzbudza liczne kontrowersje. Skutki takiego postępowania będziemy odczuwać wszyscy przez wiele lat, ale to już temat na odrębny artykuł. Poniżej przedstawiam Państwu niektóre z rozwiązań mających bezpośredni związek z wykonywaniem zawodu diagnosty laboratoryjnego, które pojawiły się w ostatnim czasie.

Zasiłek chorobowy dla diagnostów laboratoryjnych w pełnym wymiarze pensji

Dnia 29 listopada 2020 r. weszła w życie ustawa zakładająca, że w okresie podlegania obowiązkowej kwarantannie lub izolacji w warunkach domowych, oraz w czasie niezdolności do pracy z powodu COVID-19, diagnostom laboratoryjnym przysługuje zasiłek chorobowy, którego miesięczny wymiar wynosi 100% podstawy wymiaru zasiłku obliczonej na podstawie przepisów ustawy o świadczeniach pieniężnych z ubezpieczenia społecznego w razie choroby i macierzyństwa.

Zastrzec jednak należy, że ww. 100% wymiar zasiłku przysługuje wyłącznie wówczas, gdy kwarantanna, izolacja lub niezdolność do pracy są bezpośrednio związane z wykonywaniem obowiązków zawodowych wynikających z zatrudnienia w podmiocie leczniczym. Zatem w przypadku zakażenia się wirusem SARS-CoV-2 np. podczas urlopu wypoczynkowego i w konsekwencji skierowania do izolacji, diagnoście laboratoryjnemu przysługuje świadczenie w standardowej wysokości tj. 80% podstawy wymiaru zasiłku.

Warto podkreślić, że pomimo wejścia w życie ustawy dopiero w dniu 29 listopada 2020 r., ustawodawca literalnie wskazał, że wspomnianą normę należy stosować wstecz tj. od dnia 5 września 2020 r. W związku z tym faktem diagności laboratoryjni, którzy przebywali w izolacji, kwarantannie lub byli niezdolni do pracy w związku z wykonywaniem obowiązków zawodowych przed datą 29 listopada 2020 r. i otrzymali w tym czasie 80% podstawy wymiaru zasiłku, mogą ubiegać się o wyrównanie otrzymanego świadczenia do 100%.

Dodatki do wynagrodzeń dla diagnostów laboratoryjnych

W ostatnim czasie kwestia dodatków do wynagrodzeń w związku z epidemią jest tematem najbardziej dyskutowanym w środowisku diagnostów laboratoryjnych. Chaos legislacyjny i niespójnie przekazywane przez Ministerstwo Zdrowia informacje dotyczące określenia grupy osób uprawnionych do otrzymana dodatkowych środków finansowych spowodowały, że pojawiło się wiele pytań i wątpliwości w tym zakresie. Warto jednak wspomnieć, że pomimo licznych wad zwartych w obecnych rozwiązaniach, to sam fakt uwzględnienia diagnostów laboratoryjnych przez Ministerstwo Zdrowia przy przyznawaniu dodatków jest konsekwencją starań Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych, w związku z brakiem takich regulacji w poprzednich normach.

Aktualnie w obiegu prawnym funkcjonują dwie odrębne regulacje na podstawie, których przyznawane są dodatki do wynagrodzeń dla diagnostów laboratoryjnych w związku z epidemią. W pierwszej kolejności warto wspomnieć o poleceniu Ministra Zdrowia z dnia 1 listopada 2020 r., które zostało skierowane do Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia. Zgodnie z treścią ww. polecenia 100% dodatek do wynagrodzenia przysługuje diagnostom laboratoryjnym wykonującym czynności diagnostyki laboratoryjnej w laboratoriach przy szpitalach I, II i III poziomu zabezpieczenia covidowego. Warto podkreślić, że aby te osoby otrzymały dodatki to podmiot musi jeszcze spełniać następujące kryteria:

1. Posiadać umowę o wykonywanie testów diagnostycznych RT-PCR w kierunku wykrycia wirusa SARS-CoV-2;
2. Znajdować się na liście tzw. laboratoriów „covid-owych", która jest publikowana na stronie internetowej Ministerstwa Zdrowia oraz w wykazie prowadzonym przez dyrektorów oddziałów Narodowego Funduszu Zdrowia.

Powyższe kryteria przyznawania dodatków wywołały w środowisku diagnostów laboratoryjnych falę krytycznych komentarzy, bowiem pozostawiły sporą grupę osób, które bezpośrednio walczą z epidemią poza ramami norm stanowiących podstawę do ich przyznania. Zwłaszcza w sytuacji, gdy coraz powszechniej stosowane są testy

antygenowe, a diagności laboratoryjni je wykonujący, również ponoszą podwyższone ryzyko zakażenia wirusem SARS-CoV-2. W związku z tym faktem Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych, w dniu 17 listopada 2020 r. przyjęła stanowisko, które zostało następnie skierowane do Ministra Zdrowia z postulatami w przedmiocie rozszerzenia grupy osób uprawnionych do otrzymania dodatków do wynagrodzeń m. in. właśnie o diagnostów laboratoryjnych wykonujący testy antygenowe w kierunku wirusa SARS-CoV-2.

Drugim rozwiązaniem, które aktualnie znajduje się w porządku prawnym są przepisy bezpośrednio wynikające z nowych regulacji ustawowych. Regulacja ta dotyczy wyłącznie diagnostów laboratoryjnych skierowanych do pracy na podstawie decyzji wojewody. Wówczas sam fakt skierowania do pracy przez wojewodę powoduje, że takiej osobie przysługuje wynagrodzenie zasadnicze w wysokości nie niższej niż 200% przeciętnego wynagrodzenia zasadniczego przewidzianego na danym stanowisku pracy w zakładzie wskazanym w tej decyzji lub w innym podobnym zakładzie, jeżeli w danym zakładzie nie ma takiego stanowiska.

Powrót do zawodu diagnosty laboratoryjnego podczas epidemii COVID-19

Ostatnio procedowana tzw. ustawa o kadrach medycznych zakłada wprowadzenie regulacji, które będą ustanawiać, nowe zasady powrotu do zawodu diagnosty laboratoryjnego podczas obowiązywania stanu zagrożenia epidemicznego lub stanu epidemii. Rozwiązania te są rewolucyjne w stosunku do aktualnie obowiązujących zasad. Diagnosta laboratoryjny mający przerwę w wykonywaniu zawodu dłuższą niż 5 lat nie będzie już miał obowiązku odbycia przeszkolenia pod warunkiem, że przez pierwsze trzy miesiące wykonywania zawodu będzie udzielał świadczeń zdrowotnych pod nadzorem innego diagnosty laboratoryjnego. Niestety wspomniane rozwiązanie jest dość lakoniczne. Nie wiadomo na czym dokładnie wspomniany nadzór będzie polegał, dlatego kwestia ta, z całą pewnością będzie wzbudzała wątpliwości interpretacyjne.

Nowe obowiązki Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych

Ustawa o kadrach medycznych, skraca czas na stwierdzenie prawa wykonywania zawodu do 14 dni licząc od dnia wpłynięcia dokumentów do Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych. Skrócenie czasu z 3 miesięcy do 14 dni będzie obowiązywało podczas stanu epidemii oraz stanu zagrożenia epidemicznego. Warunkiem sine qua non podjęcia decyzji o której mowa powyżej jest spełnienie przez diagnostę laboratoryjnego wymogów formalnych o których mowa w art. 7 ustawy o diagnostyce laboratoryjnej. Warto wspomnieć, że w projektowanej ustawie, termin ten wynosił tylko 7 dni, ale z powodów technicznych nie było możliwości dochowania tego terminu. W związku z powyższym Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych zwróciła się z wnioskiem o wydłużenie tego okresu przynajmniej do 14 dni, co spotkało się z akceptacją ze strony posłów. Wbrew stanowisku samorządów zawodów medycznych ustawodawca uchwalił przepis zobowiązujący izby zawodowe do przekazywania, na wniosek właściwego wojewody albo Ministra Zdrowia, wykazu osób wykonujących zawody medyczne, które mogą być skierowane do pracy przy zwalczaniu epidemii. Dane mają być przekazywane w ciągu 7 dni oraz zawierać: imię, nazwisko, adres miejsca zamieszkania i numer prawa wykonywania zawodu. Wprowadzenie ww. rozwiązania spotkało się ze sprzeciwem samorządów medycznych (w tym Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych) bowiem izby nie dysonują informacjami oraz instrumentami prawnymi umożliwiającymi weryfikację odnośnie osób, które nie mogą być skierowane do pracy na mocy art. 47 ust. 3 ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi. W praktyce omawiany obowiązek będzie niezwykle trudny do spełnienia lub wręcz niewykonalny.

Epidemia spowodowała, że organizacja posiedzeń w trybie stacjonarnym organów kolegialnych (np. Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych) samorządu zawodowego diagnostów jest w znaczący sposób utrudniona albo wręcz niemożliwa do przeprowadzenia. W związku z powyższym, wprowadzono przepisy (m. in. na wniosek KIDL) dopuszczające przeprowadzanie posiedzeń i przyjmowanie uchwał przy wykorzystaniu środków bezpośredniego porozumiewania się na odległość lub w trybie obiegowym. Uchwały podjęte w tych trybach są ważne, gdy wszyscy członkowie danego organu zostali powiadomieni o treści projektu uchwały i terminie oddania głosu oraz w głosowaniu wzięła udział co najmniej połowa członków tego organu.

Egzaminy specjalizacyjne

Epidemia COVID-19 wymusiła zmiany również w obszarze kształcenia i egzaminów specjalizacyjnych. Ustawodawca wprowadził do ustawy o diagnostyce laboratoryjnej *lex specialis* mający zastosowanie w przypadku obowiązywania stanu zagrożenia epidemicznego lub stanu epidemii. Zgodnie z brzmieniem art. 30v ust. 20 do ww. ustawy, jeżeli przeprowadzenie egzaminu testowego albo ustnego, albo praktycznego nie będzie możliwe ze względu na bezpieczeństwo osób biorących udział w tym egzaminie, Minister Zdrowia może w trakcie sesji egzaminacyjnej podjąć decyzję o odstąpieniu od przeprowadzenia egzaminu testowego albo ustnego, albo praktycznego w danej dziedzinie w tej sesji z zachowaniem wyłącznie jednej z form egzaminu. Mając na względzie bezpieczeństwo diagnostów laboratoryjnych, opierając się na ww. normie prawnej, Prezes Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych wnioskowała do Ministra Zdrowia o odstąpienie od przeprowadzenia części praktycznej egzaminów specjalizacyjnych we wszystkich dziedzinach. Minister Zdrowia przychylił się do wspomnianych wniosków i w konsekwencji już dwukrotnie odstąpił od przeprowadzenia egzaminów praktycznych dla diagnostów laboratoryjnych tj. w sesji wiosennej i jesiennej.

Nowy wzór Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego

Pomimo trwania epidemii COVID-19 zmienia się również prawo w innych obszarach. Ustawodawca wprowadzając ustawę o dokumentach publicznych zobowiązał wszystkie instytucje wydające dokumenty o charakterze publicznym do dostosowania ich do nowych standardów (w zakresie dodatkowych zabezpieczeń) albo opracowania nowych wzorów. Dotyczy to również Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych, która wydaje dokument Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego (PWZDL). Ministerstwo Zdrowia przychyliło się do propozycji wzoru opracowanego przez KIDL i przyjętego uchwałą Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych. Aktualnie finalizowane są prace w tym zakresie. Nowy dokument PWZDL będzie miał formę karty poliwęglanowej, a jego wydawanie nastąpi od połowy 2021 roku. ●

(imię i nazwisko)
(województwo)
(nr PWZDL)

(pieczątka diagnosty lab.)

OŚWIADCZENIE DIAGNOSTY LABORATORYJNEGO

Ja niżej podpisana/y po zapoznaniu się z treścią art. 47 ust. 3 ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi (Dz. U. z 2020 r. poz. 1845) zawierającego katalog osób wyłączonych od pracy przy zwalczaniu epidemii na podstawie właściwego skierowania (załącznik nr 1 do przedmiotowego oświadczenia tj. „pouczenie"), niniejszym oświadczam, że:

- nie podlegam skierowaniu do pracy przy zwalczaniu epidemii na podstawie art. 47 ust. 3 ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi (Dz. U. z 2020 r. poz. 1845);
- wyrażam zgodę na przekazanie niniejszego oświadczenia do właściwych organów i instytucji odpowiadających za zwalczanie epidemii SARS-CoV-2, w tym w szczególności do właściwego wojewody i ministra właściwego do spraw zdrowia;

(data i czytelny podpis składającego oświadczenie)

Załącznik nr 1 do oświadczenia diagnosty laboratoryjnego

POUCZENIE

Zgodnie z art. 47 ust. 3 ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi (Dz. U. z 2020 r. poz. 1845), skierowaniu do pracy niosącej ryzyko zakażenia przy zwalczaniu epidemii nie podlegają:

1) osoby, które nie ukończyły 18 lat bądź ukończyły 60 lat (kobiety) lub 65 lat (mężczyźni);
2) kobiety w ciąży;
3) osoby samotnie wychowujące dziecko w wieku do 18 lat*;
4) osoby wychowujące dziecko w wieku do 14 lat;
5) osoby wychowujące dziecko z orzeczeniem o niepełnosprawności lub orzeczeniem o potrzebie kształcenia specjalnego;
6) osoby, u których orzeczono częściową lub całkowitą niezdolność do pracy;
7) inwalidzi i osoby z orzeczonymi chorobami przewlekłymi, na których przebieg ma wpływ zakażenie lub zachorowanie na chorobę zakaźną będącą przyczyną epidemii lub orzeczona choroba przewlekła ma wpływ na przebieg lub zachorowanie na chorobę zakaźną*;
8) osoby, o których mowa w art. 2 ustawy z dnia 31 lipca 1981 r. o wynagrodzeniu osób zajmujących kierownicze stanowiska państwowe (Dz. U. z 2020 r. poz. 1637), oraz posłowie i senatorowie Rzeczypospolitej Polskiej.

* W przypadku gdy dziecko w wieku do 18 lat jest wychowywane przez dwoje osób, którym przysługuje władza rodzicielska, do pracy przy zwalczaniu epidemii może zostać skierowana wyłącznie jedna z nich.

* Orzeczenie w sprawie choroby, o której mowa w pkt 7 wydaje lekarz, o którym mowa w art. 14 ust. 1 ustawy z dnia 17 grudnia 1998 r. o emeryturach i rentach z Funduszu Ubezpieczeń Społecznych (Dz. U. z 2020 r. poz. 53, 252, 568, 1222 i 1578).

Zasady przetwarzania Państwa danych osobowych:

Wypełniając obowiązek wynikający z art. 13 ust. 1 i 2 ogólnego rozporządzenia o ochronie danych osobowych z dnia 27 kwietnia 2016 r. (Dz. Urz. UE L 119 z 04.05.2016), zwanego dalej „Rozporządzeniem" informujemy, że:

1) Administratorem Pani/Pana danych osobowych jest Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych w Warszawie z siedzibą przy ul. Konopackiej 4, 03-428 Warszawa, tel. kontaktowy: (22) 741 21 55 email: biuro@kidl.org.pl
2) Pani/Pana dane osobowe przetwarzane są na podstawie art. 6 ust. 1 lit. a i c Rozporządzenia w związku z epidemią wywołaną wirusem SARS-CoV-2, zwaną dalej „COVID-19" oraz przekazane wojewodzie lub Ministrowi Zdrowia w związku z tworzeniem wykazu diagnostów laboratoryjnych, którzy mogą być skierowani do pracy przy zwalczaniu COVID-19, w celu wykazania, że Pani/Pana przypadku skierowanie takie nie jest możliwe;
3) Podanie danych osobowych jest dobrowolne a zgoda na ich przetwarzanie niezbędna dla osiągnięcia celów zgodnych z obowiązującymi przepisami prawa;
4) Dane osobowe będą przechowywane nie dłużej niż 10 lat licząc od dnia ustania stanu zagrożenia epidemicznego lub stanu epidemii.
5) Przysługuje Pani/Panu prawo:
   a) dostępu do treści danych, ich sprostowania, usunięcia lub ograniczenia przetwarzania lub wniesienia sprzeciwu wobec przetwarzania, a także ich przenoszenia, w granicach określonych prawem;
   b) wniesienia skargi do organu nadzorczego, jeżeli przetwarzanie danych osobowych narusza obowiązujące przepisy prawa;
   c) kontaktowania się Inspektorem Ochrony Danych KIDL w Warszawie email: iod@kidl.org.pl we wszystkich sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych oraz wykorzystaniem prawa przysługujących na podstawie Rozporządzenia.

(imię i nazwisko)
(województwo)
(nr PWZDL)

(pieczątka diagnosty lab.)

OŚWIADCZENIE DIAGNOSTY LABORATORYJNEGO

Ja niżej podpisana/y po zapoznaniu się z treścią art. 47 ust. 3 ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi (Dz. U. z 2020 r. poz. 1845) zawierającego katalog osób wyłączonych od pracy przy zwalczaniu epidemii na podstawie właściwego skierowania (załącznik nr 1 do przedmiotowego oświadczenia tj. „pouczenie"), niniejszym oświadczam, że:

- podlegam skierowaniu do pracy przy zwalczaniu epidemii na podstawie art. 47 ust. 3 ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi (Dz. U. z 2020 r. poz. 1845);
- wyrażam zgodę na przekazanie niniejszego oświadczenia do właściwych organów i instytucji odpowiadających za zwalczanie epidemii SARS-CoV-2, w tym w szczególności do właściwego wojewody i ministra właściwego do spraw zdrowia;

(data i czytelny podpis składającego oświadczenie)

Załącznik nr 1 do oświadczenia diagnosty laboratoryjnego

POUCZENIE

Zgodnie z art. 47 ust. 3 ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. ustawy z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi (Dz. U. z 2020 r. poz. 1845), skierowaniu do pracy niosącej ryzyko zakażenia przy zwalczaniu epidemii nie podlegają:

1) osoby, które nie ukończyły 18 lat bądź ukończyły 60 lat (kobiety) lub 65 lat (mężczyźni);
2) kobiety w ciąży;
3) osoby samotnie wychowujące dziecko w wieku do 18 lat*;
4) osoby wychowujące dziecko w wieku do 14 lat;
5) osoby wychowujące dziecko z orzeczeniem o niepełnosprawności lub orzeczeniem o potrzebie kształcenia specjalnego;
6) osoby, u których orzeczono częściową lub całkowitą niezdolność do pracy;
7) inwalidzi i osoby z orzeczonymi chorobami przewlekłymi, na których przebieg ma wpływ zakażenie lub zachorowanie na chorobę zakaźną będącą przyczyną epidemii lub orzeczona choroba przewlekła ma wpływ na przebieg lub zachorowanie na chorobę zakaźną*;
8) osoby, o których mowa w art. 2 ustawy z dnia 31 lipca 1981 r. o wynagrodzeniu osób zajmujących kierownicze stanowiska państwowe (Dz. U. z 2020 r. poz. 1637), oraz posłowie i senatorowie Rzeczypospolitej Polskiej.

* W przypadku gdy dziecko w wieku do 18 lat jest wychowywane przez dwoje osób, którym przysługuje władza rodzicielska, do pracy przy zwalczaniu epidemii może zostać skierowana wyłącznie jedna z nich.

* Orzeczenie w sprawie choroby, o której mowa w pkt 7 wydaje lekarz, o którym mowa w art. 14 ust. 1 ustawy z dnia 17 grudnia 1998 r. o emeryturach i rentach z Funduszu Ubezpieczeń Społecznych (Dz. U. z 2020 r. poz. 53, 252, 568, 1222 i 1578).

Zasady przetwarzania Państwa danych osobowych:

Wypełniając obowiązek wynikający z art. 13 ust. 1 i 2 ogólnego rozporządzenia o ochronie danych osobowych z dnia 27 kwietnia 2016 r. (Dz. Urz. UE L 119 z 04.05.2016), zwanego dalej „Rozporządzeniem" informujemy, że:

1) Administratorem Pani/Pana danych osobowych jest Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych w Warszawie z siedzibą przy ul. Konopackiej 4, 03-428 Warszawa, tel. kontaktowy: (22) 741 21 55 email: biuro@kidl.org.pl
2) Pani/Pana dane osobowe przetwarzane są na podstawie art. 6 ust. 1 lit. a i c Rozporządzenia w związku z epidemią wywołaną wirusem SARS-CoV-2, zwaną dalej „COVID-19" oraz przekazane wojewodzie lub Ministrowi Zdrowia w związku z tworzeniem wykazu diagnostów laboratoryjnych, którzy mogą być skierowani do pracy przy zwalczaniu COVID-19, w celu wykazania, że Pani/Pana przypadku skierowanie takie nie jest możliwe;
3) Podanie danych osobowych jest dobrowolne a zgoda na ich przetwarzanie niezbędna dla osiągnięcia celów zgodnych z obowiązującymi przepisami prawa;
4) Dane osobowe będą przechowywane nie dłużej niż 10 lat licząc od dnia ustania stanu zagrożenia epidemicznego lub stanu epidemii.
5) Przysługuje Pani/Panu prawo:
   a) dostępu do treści danych, ich sprostowania, usunięcia lub ograniczenia przetwarzania lub wniesienia sprzeciwu wobec przetwarzania, a także ich przenoszenia, w granicach określonych prawem;
   b) wniesienia skargi do organu nadzorczego, jeżeli przetwarzanie danych osobowych narusza obowiązujące przepisy prawa;
   c) kontaktowania się Inspektorem Ochrony Danych KIDL w Warszawie email: iod@kidl.org.pl we wszystkich sprawach związanych z przetwarzaniem danych osobowych oraz wykorzystaniem prawa przysługujących na podstawie Rozporządzenia.





Łukasz Tucki[1]

[1] Krajowy Związek Zawodowy Pracowników Medycznych Laboratoriów Diagnostycznych
www.kzzpmld.pl

OKLASKI TO ZA MAŁO

Pandemia COVID-19 coraz bardziej podkreśla smutny obraz rzeczywistości ochrony zdrowia w Polsce. Poza oczywistymi skutkami, jakimi są powikłania po przechorowaniu choroby, ciągle rośnie liczba zgonów z powodu zakażenia wirusem SARS-CoV-2, piętrzą się problemy z uzyskaniem pomocy medycznej zarówno w przypadku osób zakażonych, jak również osób oczekujących na wizytę u specjalistów. Nieustannie rośnie także liczba problemów psychicznych, coraz więcej wiemy również o narządowych powikłaniach COVID-19 wymagających długotrwałego leczenia. Samo środowisko diagnostów laboratoryjnych i personelu laboratoriów również doświadczyło braków kadrowych wynikających z choroby wielu pracowników.





W tym wszystkim najbardziej absurdalny i oburzający jest jednak stosunek rządzących w kwestii docenienia osób stojących na pierwszej linii walki z pandemią. Bili nam brawo – ale to o wiele za mało za pracę z wysoce zakaźnym materiałem pochodzącym od osób potencjalnie zakażonych i osób z potwierdzonym zakażeniem wirusem SARS-CoV-2. Uchwalili ustawę z zapisem, iż wszystkim walczącym z pandemią należał się będzie dodatek w wysokości 100% uposażenia. W tej samej ustawie znalazły się zapisy o 100% wypłacie wynagrodzenia w przypadku zakażenia koronawirusem u osób wykonujących zawód medyczny. Prezydent podpisał ustawę, ale niestety premier celowo wstrzymywał jej publikację w Dzienniku Ustaw. Potrzebna była dopiero ustawa „naprawcza" w której doprecyzowano, że dodatek w wysokości 100% uposażenia przyznany zostanie tylko dla osób skierowanych przez wojewodę do pracy przy zwalczaniu epidemii. Wypada zadać pytanie retoryczne – czym ich praca różni się od pracy osób bez skierowania od wojewody? Bo pandemia w Polsce nie zaczęła się wczoraj, ani miesiąc temu – a nie wiadomo jak szybko uda się nam ją zwalczyć.



Kolejne z absurdów prawnych dotyczą nowelizacji polecenia Ministra Zdrowia dla prezesa NFZ z dnia 1 listopada 2020 r. w zakresie przyznawania dodatków za pracę w wysokości 100% uposażenia. Przypomnijmy pokrótce wątpliwości Zarządu Krajowego KZZPMLD, które zaraz po ogłoszeniu ministerialnego polecenia wysłaliśmy do Ministerstwa Zdrowia, a do których nie uzyskaliśmy sensownych wyjaśnień. W naszej opinii:

- polecenie nie precyzuje kto spośród personelu medycznego laboratorium diagnostycznego ma dodatek otrzymać – czy wszyscy pracownicy, czy pracownicy wykonujący badania metodą rRT-PCR?
- wykluczono z otrzymywania dodatków pracowników laboratoriów w szpitalach I, II, i III stopnia zabezpieczenia przy zwalczaniu epidemii z powodu braku umowy z NFZ lub braku laboratorium „COVIDowego",
- wykluczono z otrzymywania dodatków wszystkich pracowników PSSE, WSSE, CKiK i prywatnych podmiotów medycznych, wykonujących badania metodą rRT-PCR,
- pominięto zaangażowanie diagnostów w wykonywanie wymazów od osób potencjalnie zakażonych i osób z potwierdzonym zakażeniem koronawirusem SARS-CoV-2, wykonywanie szybkich testów antygenowych wirusa czy ich raportowanie, jeśli kryteria zawarte w poleceniu nie były spełnione łącznie,
- zapomniano o tym, że diagnostyka laboratoryjna w chorobie jaką jest COVID-19 obejmuje całe spektrum badań laboratoryjnych, które służą od walce o zdrowie i życie pacjentów na oddziałach szpitalnych – potwierdzenie zakażenia to tylko 1 krok w przypadkach choroby – od oznaczeń biochemicznych po serologię przed transfuzją osocza ozdrowieńców,
- panuje całkowita dowolność dyrektorów szpitali w tworzeniu list osób uprawnionych przekazywanych OW NFZ.

Zamiast oklasków całe środowisko diagnostów w Polsce od lat domaga się docenienia naszego zawodu medycznego i zawodu zaufania publicznego, tymczasem otrzymujemy jedne z najniższych wynagrodzeń. Chcielibyśmy wiedzieć, gdzie w sejmowych szufladach „utknęły" prace nad Ustawą o medycynie laboratoryjnej, do której zarówno KIDL, jak również nasz związek zawodowy jeszcze w sierpniu zgłosił wiele zastrzeżeń. Docenienie ma też oczywiście wymiar finansowy. Niedopuszczalny jest wobec tego brak nowelizacji Ustawy o sposobie ustalania najniższego wynagrodzenia zasadniczego niektórych pracowników zatrudnionych w podmiotach leczniczych, który zapowiadał jeszcze na początku 2020 roku Minister Łukasz Szumowski. Niedopuszczalne jest także, by wybrane grupy zawodów medycznych były faworyzowane i otrzymywały dodatki z NFZ, podczas gdy inne grupy zawodowe, których wynagrodzenia teoretycznie określa ta sama tabela ustawowa, otrzymywały jedynie wynagrodzenia wynikające wyłącznie z ustawy. Nie można wszystkiego tłumaczyć stanem epidemicznym.

Czy w Ministerstwie Zdrowia usłyszą głos diagnostów i zareagują we właściwy sposób? Tego nie wiemy, ale chcielibyśmy by tak się stało. Na chwile obecną będą nas leczyć pracownicy spoza UE, bo polscy lekarze i pielęgniarki pracują w innych krajach europejskich. Mają zdecydowanie lepsze wynagrodzenia, są mniej obciążeni pracą, bo najważniejszy w każdym miejscu pracy jest kapitał ludzki. Wszędzie, oprócz Polski, gdzie w wielu miejscach i od wielu miesięcy brakuje chętnych do pracy w laboratoriach. A polskie społeczeństwo niestety starzeje się pod względem demograficznym. Pora na działanie.

To działanie zależy w dużej mierze od samego kapitału jakim są pracownicy. Od lat dziwi nas paradoks braku związków zawodowych w większości laboratoriów diagnostycznych. Istnieją oczywiście co najmniej dwa możliwe wytłumaczenia tego zjawiska. Albo jest tam tak dobrze, że te związki nie są potrzebne, albo wprost przeciwnie – pracują tam osoby, które godzą się na różne nadużycia, na przykład ze strony pracodawców. Niezależnie od tego zawsze może być lepiej, a strażnikiem poprawy warunków pracy w każdym miejscu jest związek zawodowy. W skali ogólnokrajowej jest to jeszcze istotniejsze – tylko duże, reprezentatywne związki zawodowe – oparte na sile swoich członkiń i członków mogą wpływać na decyzję partnerów społecznych – Ministerstwa Zdrowia i pracodawców. ●

INFORMATOR O UCHWAŁACH
ORGANÓW KRAJOWEJ IZBY DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH

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

Posiedzenie XIV Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 28 października 2020 roku (zdalne):

1. Uchwała Nr 109/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 28 października 2020 roku w sprawie odmowy uznania kwalifikacji;
2. Uchwała Nr 110/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 28 października 2020 roku w sprawie odmowy uznania kwalifikacji;
3. Uchwała Nr 111/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 28 października 2020 roku w sprawie zmiany w składzie osobowym Zespołu do Spraw Potwierdzania i Uznawania Kwalifikacji Zawodowych Diagnosty Laboratoryjnego;
4. Uchwała Nr 112/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 28 października 2020 roku w sprawie zmiany Uchwały nr 131/IV/2018 w sprawie przyjęcia regulaminu uzyskiwania zaświadczenia potwierdzającego uznanie punktów edukacyjnych za przeprowadzenie wybranej formy ciągłego szkolenia diagnosty laboratoryjnego;
5. Uchwały od Nr 113/1-P/V/2020 do Nr 113/27-P/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 28 października 2020 roku w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych;
6. Uchwała Nr 114/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 28 października 2020 roku w sprawie zatwierdzenia decyzji Komisji Nagród i Odznaczeń Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych;
7. Uchwała Nr 115/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 28 października 2020 roku w przedmiocie przeznaczenia dodatkowych środków na dofinansowania celowe kształcenia Diagnostów Laboratoryjnych;

Posiedzenie XV Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 16 listopada 2020 roku (zdalne):

1. Uchwała Nr 116/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 16 listopada 2020 w sprawie zniesienia tajności głosowania nad przyjęciem uchwały w sprawie odwołania Pani Justyny Marynowskiej z funkcji Wiceprezesa Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych w związku z rezygnacją z pełnionej funkcji;
2. Uchwała Nr 117/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 16 listopada 2020 roku w sprawie powołania Komisji Mandatowo-Wyborczej oraz Komisji Skrutacyjnej;
3. Uchwała Nr 118/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 16 listopada 2020 roku w sprawie odwołania Pani Justyny Marynowskiej z funkcji Wiceprezesa Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych w związku z rezygnacją z pełnionej funkcji;
4. Uchwała Nr 119/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 16 listopada 2020 roku w sprawie wyrażenia zgody na wypowiedzenie umowy o pracę z Panią Justyną Marynowską;
5. Uchwała Nr 120/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 16 listopada 2020 roku w sprawie zmiany Uchwały Nr 62/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 13 września 2019 r. w sprawie określenia osób upoważnionych do zawierania umów, udzielania pełnomocnictw oraz składania oświadczeń woli w sprawach majątkowych i finansowych w imieniu Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych;
6. Uchwała Nr 121/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 16 listopada 2020 roku w sprawie zmiany uchwały Nr 16/V/2019 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 4 marca 2019 roku w sprawie ustalenia podziału czynności między członkami Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych;
7. Uchwała Nr 122/1-P/V/2020 do 122/5-P/V/2020 Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 16 listopada 2020 roku w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych;

Posiedzenie XV Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 27 listopada 2020 roku (zdalne):

1. Uchwały od Nr 101/1-P/V/2020 do Nr 101/3-P/V/2020 Prezydium KRDL z dnia 27 listopada 2020 r. w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
2. Uchwały od Nr 102/1-P/2020 do Nr 102/6-P/V/2020 Prezydium KRDL z dnia 27 listopada 2020 r. w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;

3. Uchwały od Nr 103/1-P/V/2020 do Nr 103/25-P/V/2020 Prezydium KRDL z dnia 27 listopada 2020 r. w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych;
4. Uchwała Nr 104/1-P/V/2020 Prezydium KRDL z dnia 27 listopada 2020 r. w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych.

Stanowiska

1. Stanowisko Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 17 listopada 2020 r. w sprawie obciążeń biurokratycznych nakładanych na pracowników medycznych laboratoriów diagnostycznych;
2. Stanowisko Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 17 listopada 2020 r. odnośnie wykonywania badań szybkimi testami antygenowymi u pacjentów z podejrzeniem zakażenia SARS-CoV-2;
3. Stanowisko Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 17 listopada 2020 r. w sprawie przyznania dodatkowego wynagrodzenia dla osób walczących z epidemią COVID-19.

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

Posiedzenie XXIII Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 27 października 2020 roku (zdalne):

1. Uchwały od Nr 101/1-P/V/2020 do Nr 101/3-P/V/2020 Prezydium KRDL z dnia 27 listopada 2020 roku w sprawie wykreślenia medycznego laboratorium diagnostycznego z ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
2. Uchwały od Nr 102/1-P/V/2020 do Nr 102/6-P/V/2020 Prezydium KRDL z dnia 27 listopada 2020 roku w sprawie wpisu medycznego laboratorium diagnostycznego do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez KRDL;
3. Uchwały od 103/1-P/V/2020 do Nr 103/25-P/V/2020 Prezydium KRDL z dnia 27 listopada 2020 roku w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych;
4. Uchwały od nr 104/1-P/V/2020 z dnia 27 listopada 2020 r. Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych.

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

KRAJOWA IZBA DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH
KIDL



Niech magiczna noc
Wigilijnego Wieczoru
Przyniesie Wam spokój i radość.
Niech każda chwila świąt
Bożego Narodzenia
Żyje własnym pięknem,
A Nowy Rok obdaruje Was
Pomyślnością i szczęściem.

Najserdeczniejsze życzenia
świąteczne i noworoczne składają:
Alina Niewiadomska – prezes KRDL
wraz z Krajową Radą
Diagnostów Laboratoryjnych