

#74  
kwiecień 2016

# aktualności bioMérieux





# Vidas

## High sensitive Troponin I

Pełna diagnoza  
w ciągu 2 godzin

### Redakcja

**Wydawca:** bioMérieux Polska Sp. z o.o.

**Osoba odpowiedzialna:** Ireneusz Popławski

**Osoby biorące udział w przygotowaniu nr 74:**

Konrad Klimek  
Alicja Rusinek  
Piotr Szczegłowski

**Adres redakcji i wydawcy:**

**bioMérieux Polska**  
01-518 Warszawa, ul. Gen. Józefa Zajęczka 9  
tel. (22) 569 85 00 • fax (22) 569 85 54  
[www.biomerieux.pl](http://www.biomerieux.pl)

**Opracowanie graficzne:**

Mariusz Glejzer  
[www.glejzer.com](http://www.glejzer.com)

Piśmiennictwo dostępne w redakcji

w tym numerze:

3-8

Rola witaminy D w profilaktyce  
i optymalizacji leczenia schorzeń pediatrycznych

9-15

Ocena przydatności testu Rapidec®  
Carba NP w wykrywaniu karbapenemaz  
w szczepach karbapenemoopornych

16-18

FluoroType MTB nowy test genetyczny w diagnostyce  
mikrobiologicznej gruźlicy

19-20

D-dimer jako narzędzie określające czas terapii  
antykoagulantami w samoistnej żyłnej chorobie  
zakrzepowo-zatorowej (ŻChZZ)

21-25

Wyższa skuteczność testu D-dimer w bezpiecznym  
wykluczaniu zatorowości płucnej

# Rola witaminy D w profilaktyce i optymalizacji leczenia schorzeń pediatrycznych

**Elżbieta Karczarewicz**  
**Osteoforum – Multimedialne Centrum**  
**Informacyjno-Edukacyjne, Warszawa**  
**Instytut Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka,**  
**Warszawa (do 2014 roku)**

## Streszczenie

Niedobory i deficyty witaminy D dotyczą 95% populacji dzieci i dorosłych Polski i Europy Środkowej. Niedobory i deficyty witaminy D zwiększają ryzyko rozwoju chorób o podłożu autoimmunologicznym i infekcyjnym, sprzyjają rozwojowi otyłości i zespołu metabolicznego a także depresji. Witamina D jest czynnikiem immunoprotekcyjnym w chorobach autoimmunologicznych, gdyż ogranicza odpowiedź immunologiczną typu Th1 i przesuwa ją w stronę dominacji odpowiedzi typu Th2 istotnie redukując poziom cytokin pozapalnych oraz czynnikiem nefroprotekcijnym poprzez regulacje układu renina – angiotensyna-aldosteron. Właściwa suplementacja witaminy D może nie tylko zmniejszać ryzyko wystąpienia schorzeń pediatrycznych ale także optymalizować ich leczenie.

## Wstęp

Analiza prac opublikowanych w ostatnich latach sugeruje, że właściwe zaopatrzenie ustroju w witaminę D nie jest w swej istocie problemem żywieniowym, lecz problemem z zakresu endokrynologii. Aktywną biologicznie formą witaminy D w organizmie jest jej metabolit  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  (kalcytriol). Należy on do superrodziny hormonów bezpośrednio modulujących aktywność wielu genów. Kalcytriol poprzez oddziaływanie z jądrowym receptorem VDR (*vitamin D receptor*), a potem bezpośrednio wiązanie z DNA, reguluje aktywność około 5% ludzkiego genomu (500 genów), co wskazuje na działanie wielonarządowe i plejotropowe tego hormonu. Oprócz tkanek i narządów odpowiadających za utrzymanie homeostazy wapniowo-fosforowej (jelito cienkie, tkanka kostna, nerki, przytarczyce) receptor VDR został dotychczas zidentyfikowany w 36 innych lokalizacjach ludzkiego organizmu, m.in. w mięśniu sercowym, mięśniach gładkich, limfocytach B i T, gruczołach dokrewnych, mózgu. Ponadto obecność  $1\alpha$ -hydroksylazy, enzymu konwertującego  $25(\text{OH})\text{D}$  do aktywnej formy  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ , stwierdzono nie tylko w nerkach, ale także w szeregu innych lokalizacjach. Aktywność  $1\alpha$ -hydroksylazy zaobserwowano m.in. w komórkach endotelium, komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych, aktywnych ma-

krofagach. Są to tzw. hydroksylazy obwodowe, którym przypisuje się coraz większe znaczenie w oddziaływaniu witaminy D na organizm ludzki.

## Choroby alergiczne

Atopia, czyli uwarunkowana genetycznie predyspozycja do nadmiernej produkcji przeciwciał klasy IgE jest podłożem chorób alergicznych. Do najczęstszych chorób alergicznych wieku rozwojowego należą: atopowe zapalenie skóry (AZS), astma, alergiczny nieżyt nosa, alergiczny nieżyt spojówek, alergie pokarmowe i pokrzywki. W ciągu ostatnich dziesięcioleci, równoległe do epidemii chorób, u podłoża których leży dysregulacja immunologiczna, obserwujemy narastającą częstość niedoboru witaminy D. Szereg badań epidemiologicznych i obserwacyjnych potwierdza związek między niedoborem witaminy D a częstością występowania i gorszym przebiegiem chorób alergicznych, zwłaszcza astmy i AZS. Obecnie szczególne znaczenie przypisuje się przeciwzapalnemu i immunomodulującemu działaniu witaminy D. Witamina D uczestniczy w pierwotnej i wtórnej odpowiedzi immunologicznej, wpływa na wiele komórek układu immunologicznego, takich jak komórki dendrytyczne, makrofagi, komórki T, B, komórki NK, mastocyty, eozynofile, neutrofile. Uczestniczy także w wytwarzaniu niektórych cytokin, chemokin oraz ekspresji czynników transkrypcyjnych. Badania wykonane na dużych populacjach wskazują na ścisłą korelację pomiędzy długotrwałym niedoborem witaminy D a zaburzeniami pierwotnej i wtórnej odpowiedzi immunologicznej. Niedobór witaminy D zwiększa ryzyko rozwoju choroby o podłożu autoimmunologicznym lub infekcyjnym takich jak toczeń rumieniowaty układowy, stwardnienie rozsiane, reumatoidalne zapalenie stawów czy cukrzyca typu 1. Szczególnie interesujące badania dotyczą udziału witaminy D w rozwoju i leczeniu chorób o podłożu alergicznym, astmy i AZS. W świetle ostatnich badań witamina D jest ważnym hormonalnym czynnikiem immunoprotekcyjnym w chorobach autoimmunologicznych, ogranicza odpowiedź immunologiczną typu Th1 i przesuwa ją w stronę dominacji odpowiedzi typu Th2.

Do najczęstszych chorób alergicznych występujących w wieku rozwojowym zalicza się: astmę, alergiczny nieżyt nosa (ANN), alergiczny nieżyt spojówek (ANS), atopowe

zapalenie skóry (AZS), alergie pokarmowe i niektóre rodzaje pokrzywek. Badanie przeprowadzone w 56 krajach wykazało, że częstość występowania AZS u dzieci w wieku 6–7 lat mieści się w przedziale 1,1–16%, a u dzieci w wieku 13–14 lat w granicach 1–17%. Choroby alergiczne są wynikiem ścisłego współdziałania czynników genetycznych, geograficznych i szeroko rozumianych czynników środowiskowych. Właściwa suplementacja witaminy D może nie tylko zmniejszać ryzyko wystąpienia chorób o podłożu atopowym i autoimmunologicznym ale także optymalizować ich leczenie.

### Witamina D układ immunologiczny

Witamina D stała się przedmiotem intensywnych badań jako regulator zarówno odporności wrodzonej jak i adaptacyjnej. Makrofagi, komórki tkanki łącznej, które uczestniczą w pierwotnej odpowiedzi immunologicznej, mają zdolność syntezy aktywnej hormonalnie witaminy D (kalcytriolu). Do zwiększenia produkcji kalcytriolu przez makrofagi dochodzi pod wpływem IFN-gamma oraz aktywacji receptorów TLC. Witamina D stymuluje różnicowanie monocytów do makrofagów oraz zmniejsza wytwarzanie cytokin prozapalnych, a nasila wytwarzanie czynników immunosupresyjnych. Witamina D nasila również procesy chemotaksji i fagocytozy, popudza wytwarzanie peptydów o właściwościach bakterioobójczych (defenzyn i katelicyn).

Wpływ witaminy D na limfocyty B jest uzależniony od tego czy komórki są pobudzone, czy pozostają w stanie spoczynku. Witamina D hamuje proliferację pobudzonych limfocytów B, co powoduje zmniejszenie produkcji immunoglobulin. Jedną z ważniejszych funkcji witaminy D jest zdolność do przełączania reakcji immunologicznej z udziałem limfocytów Th1 i Th17 na profil odpowiedzi Th2 i Treg.

Witamina D hamuje również różnicowanie, dojrzewanie i zdolność do immunostymulacji komórek dendrytycznych oraz osłabia ekspresję cząsteczek powierzchniowych koniecznych do prezentacji antygenów.

W 39 randomizowanych badaniach klinicznych wykazano, że suplementacja witaminą D obniża poziom cytokin i innych markerów stanu zapalnego u pacjentów z chorobami związanymi z zapaleniem, u których wyjściowe stężenie 25(OH)<sub>2</sub>D było niższe niż 20 ng/ml.

### Astma

Astma to przewlekła choroba zapalna, w której bierze udział wiele komórek układu immunologicznego, komórki nabłonka i mięśni gładkich dróg oddechowych.

W astmie wykazano odwrotną korelację między stężeniem 25(OH)<sub>2</sub>D a ryzykiem rozwoju astmy, jak również gorszym jej przebiegiem i słabszą odpowiedzią na leczenie. Najsilniejszy wydaje się związek między niedoborem witaminy D a podatnością na infekcje dróg oddechowych, które są najważniejszą przyczyną zaostrzeń astmy, zwłaszcza u dzieci. W grupie dzieci w wieku przedszkolnym leczonych epizodycznie z powodu nawrotowych

świstów w przebiegu infekcji, niedobór witaminy D w surowicy (25(OH)<sub>2</sub>D < 20ng/ml) zwiększał o ponad 50% ryzyko zaostrzenia astmy wymagające podania systemowych glukokortykosteroidów (GKS). Badania przeprowadzone w Łodzi wykazały, że stężenie witaminy D we krwi pępowinowej decydować może o wczesnym występowaniu świstów wydechowych, szczególnie podczas infekcji wirusowych. Stężenie 25(OH)<sub>2</sub>D < 4ng/ml w surowicy krwi pępowinowej 3-krotnie zwiększa ryzyko świstów wydechowych u dziecka w ciągu pierwszych 2 lat życia. Ponadto wykazano, że niedobór witaminy D w ciąży może doprowadzić do niekorzystnej zmiany w odpowiedzi zapalnej nabłonka dróg oddechowych noworodków podczas infekcji.

**Polscy badacze astmy u dzieci uważają, że w chwili obecnej, niezależnie od dotychczasowych efektów suplementacji, uwzględniając wszystkie wątpliwości, wpisano witaminę D w koncepcje rozwoju astmy u dzieci.**

Najważniejsze i najnowsze badanie interwencyjne (VIDA- vitamin D Add-on Therapy Enhances Corticosteroid responsiveness in asthma) wniosło wiele istotnych informacji o skuteczności codziennej suplementacji witaminy D u dorosłych (4000 IU/d przez 28 tygodni) na utratę kontroli objawów astmy u pacjentów podczas stopniowej redukcji dawki wziewnych GKS. Wykazano, że pod wpływem suplementacji witaminy D udało się uzyskać o 25% większą redukcję dawki wziewnej-GKS konieczną do otrzymania kontroli objawów astmy. W grupie pacjentów u których doszło do wzrostu stężenia 25(OH)<sub>2</sub>D >30ng/ml pod wpływem suplementacji obserwowano istotną redukcję ryzyka utraty kontroli objawów astmy mimo redukcji dawki wziewnej-GKS. Ponadto obserwowano u tych osób istotną redukcję częstości zaostrzeń. Najistotniejszy wniosek z tego badania to:

**Każdy wzrost stężenia 25(OH)<sub>2</sub>D w surowicy o 10 ng/ml zmniejszał ryzyko zaostrzenia objawów astmy o blisko 20%.**

Podstawowym, przyczynowym sposobem leczenia chorób alergicznych, w tym astmy, jest alergenowo-swoista immunoterapia. Zarówno badania polskie jak i światowe dokumentują unikalną rolę witaminy D w indukcji tolerancji alergenowej podczas odczulania. Ponadto włączenie suplementacji witaminy D do leczenia astmy u dzieci w wieku 5-12 lat nie tylko umożliwia obniżenie dawek wziewnych GKS, ale także poprawia ich status kostny w ważnym okresie wzrostu.

### Inne choroby alergiczne

Udział witaminy D w profilaktyce i leczeniu chorób alergicznych budzi liczne kontrowersje. Pierwsza hipoteza sugeruje, że suplementacja witaminy D u ciężarnych kobiet, niemowląt i małych dzieci, jest odpowiedzialna za zwiększenie częstości występowania astmy i alergii. Według drugiej hipotezy niskie stężenia 25(OH)<sub>2</sub>D w surowicy są odpowiedzialne za wzrost częstości występowania chorób alergicznych.

Najnowsze badania interwencyjne pokazują przekonujące dowody potwierdzające hipotezę drugą. Badania te wykazały, że suplementacja witaminy D w trakcie ciąży zapobiega rozwojowi astmy i alergicznego nieżytu nosa. Ponadto, wykazano, że u matki z niskim spożyciem witaminy D w diecie i niskiej konsumpcji ryb w ciąży mają wyższe ryzyko posiadania dzieci, które rozwijają objawy atopowego zapalenia skóry. Najnowsze badania włoskich naukowców wykazały istotny udział witaminy D w rozwoju atopowego zapalenia skóry potwierdzając obserwacje innych autorów. Autorzy przeprowadzili kontrolowane placebo – badanie interwencyjne (1000IU witaminy D / dobę) u 39 dzieci (średnia wieku 4 lata) z AZS. Zostały one porównane do 20 zdrowych dzieci, które nie były leczone witaminą D. W grupie AZS, 3 dzieci (7,7%) prezentowało łagodną postać AZS, 18 (46,1%) miało umiarkowaną postać AZS i 18 (46,1%) miało zaawansowane objawy AZS. Ocenę pacjentów prowadzono przy pomocy testów skórnych, oraz badaniem całkowitej IgE oraz specyficznych IgE dla alergenów wziewnych i pokarmowych. Podwyższone poziomy IgE wskazywały na immunologiczną odpowiedź na alergen. Poziom całkowitej IgE był zwiększony o 90%, a specyficznej IgE o 79% u dzieci z AZS w porównaniu do zdrowych dzieci. Dziewięćdziesiąt dzieci reagowało pozytywnie na alergeny pokarmowe, 8 dzieci na alergeny wziewne, a 14 dzieci było uczulonych na oba rodzaje alergenów. Do najczęstszych alergenów należały roztocza (15/39 dzieci) i jaja (17/39 dzieci). Testy skórne były pozytywne u 31/39 dzieci, oraz zgodnie z wynikami IgE.

W grupie AZS, tylko 18% dzieci miało 25 (OH) D powyżej poziomu 30 ng/ml, 74% miało 25 (OH) D w zakresie od 20 do 30 ng/ml i 8% miało poziomy poniżej 20 ng / ml. Średnia wartość stężenia witaminy D w surowicy wynosiła 22 ng / ml i była taka sama u dzieci leczonych i w grupie kontrolnej. Po 3 miesiącach suplementacji, witaminą D stężenie 25 (OH) D wzrosło do 29 ng / ml w grupie badanej. Uzyskano znamienne statystycznie zmniejszenie klinicznej ciężkości (P <0,001) objawów AZS i statystycznie znaczące zmniejszenie IL-2, IL-4, IL-6 i IFN- $\gamma$  (P <0,01).

Trzymiesięczna suplementacja 4 letnich dzieci z zaawansowaną postacią AZS dawką witaminy D 1000 IU/dzień znamienne zredukowała skórne objawy chorobowe jak również znormalizowała poziom cytokin do wartości obserwowanych u dzieci zdrowych. Skuteczność witaminy D zaobserwowano zarówno w przypadku alergii wziewnej jak i pokarmowej.

Badanie to dokumentuje, że witamina D jest ważnym hormonalnym czynnikiem immunoprotekcyjnym w AZS ograniczając odpowiedź immunologiczną typu Th1 i przesuwając ją w stronę dominacji odpowiedzi typu Th2.

## Otyłość i zespół metaboliczny

Badania w grupie 5867 amerykańskich dzieci w wieku 12-19 lat z bazy NHANES (2001-2002, 2003-2004, 2005-2006) wykazały zależność pomiędzy niedoborami witaminy D a zespołem metabolicznym

(OR: 1,71; 95% CI: 1,11-2,65; p < 0,01). Odnotowano korelacje pomiędzy stężeniem 25(OH)D a obwodem talii, skurczowym ciśnieniem krwi i wskaźnikiem HOMA-IR (wszystkie odwrotnie proporcjonalne) oraz stężeniem HDL cholesterolu (wprost proporcjonalny). Powyższe korelacje były niezależne od występowania otyłości u dzieci. Natomiast badanie przekrojowe u 160 brazylijskich dzieci (w wieku 15 do 17 lat) wykazało, że niewystarczająca podaż witaminy D, związana jest z niskim poziomem 25(OH)D w surowicy i sprzyja nadwadze, otyłości brzusznej, hipercholesterolemii, nadczynności przytarczyc, insulinooporności i nadciśnieniu. Wyniki te potwierdziło badanie przekrojowe 45 dzieci przed pokwitaniem (w wieku 6- 10 lat). Wykazało ono metodą regresji wieloczynnikowej, że poziom 25(OH)D w surowicy jest odwrotnie proporcjonalny do stężenia frakcji cholesterolu innego niż HDL ( $\beta$ =-0.337, p=0.043), stosunku cholesterolu całkowitego do HDL ( $\beta$ =-0.339, p=0.028) oraz frakcji LDL cholesterolu ( $\beta$ =-0.359, p=0.016). Optymalny efekt kardioprotekcyjny u dzieci wykazano powyżej stężenia 30ng/ml 25(OH)D w surowicy. W badaniu przekrojowym 713 Koreańskich nastolatków (w wieku 12-19 lat z badania 2008 Korea National Health and Nutrition Examination Survey [KNHANES]) wyznaczono metoda ROC (Receiver operation characteristic curve analysis) stężenie 25(OH)D w surowicy, poniżej którego rośnie ryzyko otyłości, otyłości brzusznej i zespołu metabolicznego - wyniosło ono 17,6 ng/ml. W badaniu przekrojowym 411 otyłych dzieci ze stanu Texas w USA (wiek 6-16 lat ) i 87 pacjentów bez nadwagi w tym samym wieku stężenie 25(OH)D w surowicy < 30ng/ml występowało aż u 92 % dzieci otyłych i 68% nieotyłych. U dzieci otyłych niskie stężenia 25(OH)D korelowało ze zwiększonym ryzykiem cukrzycy typu 2. Ponadto, prospektywne trwające 30 miesięcy, badanie 479 dzieci w wieku 5-12 lat z Bogoty w Kolumbii wykazało, że poziom 25(OH)D w surowicy < 20 ng/ml związany był nie tylko z niekorzystnym przyrostem BMI, ale także ze zmniejszoną szybkością wzrastania, zwłaszcza u dziewcząt.

Prowadzono także badania zależności pomiędzy zaopatrzeniem organizmu w witaminę D, a czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w populacji 6275 dzieci amerykańskich w wieku 1-21 lat z bazy The National Health and Nutrition Examination Survey. Deficyt witaminy D (określony jako stężenie 25(OH)D w surowicy < 15 ng/ml) występował u 9% badanej grupy, a niedobór (stężenie 25(OH)D 15-29 ng/ml) u 61%. Niedobór witaminy D (stężenie 25(OH)D < 30 ng/ml) wiązał się z podwyższonym stężeniem PTH (OR: 3,6; 95% CI: 1,8-7,1), wyższym skurczowym ciśnieniem krwi (OR: 2,24; 95% CI: 0,98-3,50), niższym stężeniem wapnia w surowicy (OR: -0.10; 95% CI: -0.15- -0.04) oraz niższym stężeniem HDL cholesterolu (OR: -3.03; 95% CI: -5.02- -1.04) (14). Ponadto w badaniu przekrojowym 4274 dzieci (średni wiek 9,9 lat) z programu The Avon Longitudinal Study of Parents and Children wykazano pozytywną zależność między poziomem 25(OH)D w surowicy a korzystnym poziomem czynników kardioprotekcyjnych takich jak Apo-A1, HDL-C i adiponektyna. W 6 miesięcznym badaniu interwencyjnym Balencia wykazał, że normalizacja poziomu

25(OH)D w surowicy (> 30 ng/ml) przy pomocy dziennej suplementacji witaminą D w dawce 4000 IU u 35 otyłych nastolatków (wiek 12-16 lat, BMI 33-45 kg/m<sup>2</sup>) korzystnie zmieniała wskaźniki insulinoporności (insulina na czczo, HOMA-IR, stosunek leptyny do adiponektyny).

Stężenie 25(OH)D < 30 ng/ml 3-krotnie zwiększa ryzyko otyłości oraz 4-krotnie zwiększa ryzyko powikłań otyłości niezależnie od masy tkanki tłuszczowej i aktywności ruchowej.

Każde podwyższenie o 4ng/ml stężenia 25(OH)D w surowicy korzystnie zmienia: ciśnienie rozkurczone (-0,3 mmHg, 95 % CI -0,6, -0,0) (P=0,02), cholesterol (-0,07 mmol/l, 95 % CI -0,10, -0,05), LDL-cholesterol (-0,05 mmol/l, 95 % CI -0,08, -0,03), TAG (-0,02 mmol/l, 95 % CI -0,03, -0,01) (P≤0,001 for all lipids).

## Nefroprotektoryjne działanie witaminy D

Mechanizm działania witaminy D w nerce to ochrona najważniejszego czynnika nefroprotekcyjnego – Klotho poprzez supresję układu renina –angiotensyna-aldosteron (RAA). Witamina D działa przez ten sam mechanizm co klasyczne leki nefroprotektoryjne z grupy inhibitorów RAA.

**U dzieci z przewlekłą niewydolnością nerek każdy wzrost stężenia 25(OH)D w surowicy o 4ng/ml zwiększa o 8.2% szanse zachowania funkcji nerek, niezależnie od eGFR, proteinurii, nadciśnienia tętniczego, FGF-23 i rozpoznania.**

W badaniu z udziałem 106 dzieci 3 miesiące po przeszczepie nerki stwierdzono ciężkie (38%) i średnie niedobory (54%) witaminy D. Jednocześnie wykazano zależność między deficytem 25(OH)D a nadczynnością przytarczyc, niskorosłością, funkcją nerek oraz ciśnieniem krwi. W analizie z wykorzystaniem regresji wielokrotnej nie udało się potwierdzić tych zależności z wyjątkiem nadciśnienia tętniczego, gdzie stężenie 25(OH)D stanowiło jedyny modyfikowalny czynnik ryzyka wystąpienia tej patologii. Nie znaleziono związku pomiędzy zaopatrzeniem organizmu w witaminę D a GFR i proteinurią. Autorzy wyniki swojej pracy podsumowali stwierdzając, że niedobory witaminy D są zjawiskiem częstym u dzieci po przeszczepieniu nerki oraz korelują z nadczynnością przytarczyc i niskorosłością. Jednocześnie mogą stanowić czynnik ryzyka wystąpienia nadciśnienia tętniczego u tych pacjentów.

Częstym powikłaniem w przewlekłej niewydolności nerek (CKD) u dzieci są zmiany elastyczności ścian naczyń. Patologie te poprzedzają wystąpienie zaburzeń sercowo-naczyniowych (przerost lewej komory serca, zaburzenia procesu rozkurczania). W grupie 43 dzieci z CKD odnotowano odwrotnie proporcjonalną zależność między stężeniem 25(OH)D w surowicy, a elastycznością ścian naczyń. Metodą regresji wielokrotnej wykazano, że jedynym czynnikiem ryzyka zmniejszającym elastyczność naczyń krwionośnych jest deficyt witaminy D (25(OH)D < 15 ng/ml). Żaden z badanych wskaźników biochemicznych gospodarki wapniowo-fosforanowej nie wykazywał związku z elastycznością naczyń.

12-miesięczne badanie interwencyjne z udziałem 72 dzieci z niewydolnością nerek (CKD) stadium 2-4 wykazało, że suplementacja pacjentów z deficytem witaminy D prowadząca do normalizacji stężenia 25(OH)D w surowicy (> 30 ng/ml) obniża ryzyko nadczynności przytarczyc (OR: 4,64; 95% CI: 1,02-21,00) oraz wydłuża okres pojawienia się wtórnej nadczynności przytarczyc (HR: 0,30; 95% CI: 0,09-0,93). Należy zaznaczyć, że mimo niewydolności nerek, nie odnotowano u tych pacjentów żadnych efektów ubocznych prowadzonej suplementacji. Osiągnięcie stężenia 25(OH)D > 40 ng/ml prowadziło jednocześnie do normalizacji stężenia 1,25(OH)2D w surowicy.

## Witamina D i depresja

Ważnym przekaźnikiem neurochemicznym w mózgu jest serotonina, odpowiedzialna za depresję, zmiany nastroju oraz zdolność koncentracji. Syntetyzowana jest w mózgu z tryptofanu przez enzym hydroksylazę tryptofanu 2. Enzym ten podlega transkrypcyjnej regulacji przez witaminę D. Istnieje hipoteza niedostatecznej syntezy serotoniny przy głębokich niedoborach witaminy D. Hipoteza ta znajduje potwierdzenie w badaniach klinicznych.

W grupie 54 szwedzkich nastolatków z objawami depresji oceniano wpływ suplementacji witaminą D na występowanie objawów choroby i samopoczucie pacjenta. Obserwowano znamienne wzrost stężenia 25(OH)D po 3 miesiącach suplementacji z 16,4 do 36,4 ng/ml (p < 0,001). Stężenie 25(OH)D pozytywnie korelowało z dobrym samopoczuciem ocenianym na podstawie 5-stopniowej skali WHO oraz kwestionariusza MFQ-S.

**Normalizacja poziomu 25(OH)D w surowicy do poziomu >30ng/ml prowadzi do poprawy następujących parametrów psychicznych: uczucia depresji, zmęczenia, drażliwości, huśtawki nastrojów, bezsenności, osłabienia, zdolności koncentracji oraz bólu.**

## Dawki witaminy D w profilaktyce schorzeń pediatrycznych

Biorąc pod uwagę, że niedobory witaminy D są bardzo powszechne wśród dzieci i młodzieży a postępująca zmiana trybu życia (unikanie słońca) oraz niska zawartość tej witaminy w produktach spożywczych dodatkowo pogłębia ten problem, niezbędna jest suplementacja witaminą D w tej grupie wiekowej, szczególnie w okresie zimowym. Zalecenia suplementacyjne dla Europy Środkowej z roku 2013 powstałe z inicjatywy ekspertów polskich na bazie medycyny opartej na dowodach naukowych zawierają zalecenia dla zdrowej populacji (Tabela 1, Tabela 2). **Przestrzeżenie zaleceń suplementacji witaminy D dla zdrowej populacji przez kobiety ciężarne i dzieci może mieć istotny wpływ na profilaktykę schorzeń pediatrycznych w Polsce.** W świetle dotychczasowych badań szczególną uwagę należy zwrócić na kobiety planujące ciążę i kobiety ciężarne. Właściwą podaż witaminy D należy zapewnić przed ciążą. Suplementacja w dawce 1500-2000 IU /dobę powinna się rozpocząć nie później niż od drugiego trymestru ciąży.

Celem suplementacji jest uzyskanie i podtrzymanie stężenia 25(OH)D 30-50 ng/ml.

## Dawki witaminy D w optymalizacji leczenia schorzeń pediatrycznych

Dla optymalizacji leczenia schorzeń pediatrycznych celem jest osiągnięcie efektywnego stężenia 25(OH)D w surowicy 30-50 ng/ml. Dlatego też przy braku możliwości pomiaru 25(OH)D w surowicy należy stosować schemat górnych dawek bezpiecznych zawarty w konsensusie Europy Środkowej (**Tabela 3**). Aby skutecznie optymalizować leczenie schorzeń pediatrycznych wskazane jest oznaczenie poziomu 25(OH)D w surowicy. Ujawnienie ciężkiego deficytu witaminy D, a więc obecność stężenia 25(OH)D <20ng/ml upoważnia lekarza do rozważenia zasadności stosowania dawek uznawanych za terapeutyczne -1000 IU/dobę u noworodków, 1000-3000 IU/dobę u niemowląt oraz 3000-5000 IU/dobę u dzieci i młodzieży w wieku 1-18 lat. Przyjmuje się, że terapia deficytu witaminy D powinna trwać 3 miesiące, a po jej zakończeniu należy wykonać badanie kontrolne.

## PODSUMOWANIE

Właściwa suplementacja witaminy D może nie tylko zmniejszać ryzyko wystąpienia schorzeń pediatrycznych ale także optymalizować ich leczenie. Przestrzeganie zaleceń suplementacji witaminy D dla zdrowej populacji przez kobiety ciężarne i dzieci może mieć istotny wpływ na profilaktykę tych chorób w Polsce. Dla optymalizacji leczenia chorób pediatrycznych szczególnie ważnym celem jest osiągnięcie efektywnego stężenia 25(OH)D w surowicy 30-50 ng/ml. Dlatego też przy braku możliwości pomiaru 25(OH)D w surowicy należy stosować schemat górnych dawek bezpiecznych zawarty w konsensusie Europy Środkowej. Ujawnienie ciężkiego deficytu witaminy D, a więc obecność stężenia 25(OH)D <20ng/ml upoważnia lekarza do rozważenia zasadności stosowania dawek uznawanych za terapeutyczne -1000 IU/dobę u noworodków, 1000-3000 IU/dobę u niemowląt oraz 3000-5000 IU/dobę u dzieci i młodzieży w wieku 1-18 lat. Przyjmuje się, że terapia deficytu witaminy D powinna trwać 3 miesiące, a po jej zakończeniu należy wykonać badanie kontrolne.

Piśmiennictwo dostępne u autora.

**Tabela 1.** Zalecenia suplementacji witaminą D zdrowej populacji Europy Środkowej.

Zalecane dzienne dawki witaminy D do bezpiecznego stosowania dla zdrowej populacji			
↓	↓	↓	↓
<b>Noworodki i niemowlęta</b>	<b>Dzieci i młodzież 1-18 lat</b>	<b>Dorośli i seniorzy</b>	<b>Ciąża i laktacja</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Od pierwszych dni życia do 6 miesięcy               <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 400 IU (10 µg)</li> </ul> </li> <li>• 6-12 miesięcy               <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 400-600 IU (0-15 µg), w zależności od dziennego spożycia z diety</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 600-1000 IU (15-25 µg), w zależności od masy ciała od września do kwietnia</li> <li>• 600-1000 IU (15-25 µg), w zależności od masy ciała, przez cały rok jeżeli nie zapewniono wystarczającej syntezy skórnej latem *</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dorośli               <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 800-2000 IU (20-50 µg), w zależności od masy ciała od września do kwietnia</li> <li>◆ 800-2000 IU (20-50 µg), w zależności od masy ciała, przez cały rok jeżeli nie zapewniono wystarczającej syntezy skórnej latem *</li> </ul> </li> <li>• Seniorzy &gt; 65 roku życia               <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 800-2000 IU (20-50 µg), w zależności od masy ciała, przez cały rok</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1500-2000 IU (37.5-50 µg)</li> <li>• Wystarczająca synteza skórna latem * jako uzupełnienie suplementacji doustnej jest bezpieczna</li> </ul>

\* Wystarczająca synteza skórna witaminy D w Polsce ma miejsce w okresie od IV do IX przy zapewnieniu ekspozycji na słońce 18% powierzchni ciała, bez stosowania filtrów ochronnych, przez 15 minut dziennie w godzinach 10-15. Ekspozycja kończyn dolnych i górnych na promieniowanie słoneczne w dawce 0.25-0.50 minimalnej dawki rumieniowej (minimal erythema dose -MED) jest równoważna dawce doustnej ~2000-4000 IU witaminy D.

**Tabela 2.** Zalecenia suplementacji witaminą D w grupach zagrożonych deficytem witaminy D.

**Zalecane dzienne dawki witaminy D do bezpiecznego stosowania w grupach zagrożonych ryzykiem deficytu**

↓	↓	↓	↓
<b>Dzieci urodzone przedwcześnie</b>	<b>Otyłe dzieci i młodzież</b>	<b>Otyli dorośli i seniorzy</b>	<b>Dark-skinned adult persons /osoby pracujące w nocy</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Od pierwszych dni życia do osiągnięcia wieku korygowanego 40 Hbd</li> <li>◆ 400–800 IU (10–20 µg)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1200–2000 IU (30–50 µg), w zależności od stopnia otyłości od września do kwietnia</li> <li>• 1200–2000 IU (30–50 µg), w zależności od stopnia otyłości, przez cały rok jeśli nie ma wystarczającej syntezy skórnej* latem</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1600-4000 IU (40-100µg), w zależności od stopnia otyłości, przez cały rok</li> <li>• Wystarczająca synteza skórna latem * jako uzupełnienie suplementacji doustnej jest bezpieczna</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1000–2000 IU (25–50 µg), w zależności od masy ciała przez cały rok</li> </ul>

**Tabela 3.** Zalecane górne bezpieczne dawki witaminy D (UL – Recommended upper limits) dla zdrowej populacji Europy środkowej.

**Górne bezpieczne dawki dzienne witaminy D dla zdrowej populacji**

↓	↓	↓	↓
<b>Noworodki i niemowlęta</b>	<b>Dzieci i młodzież 1–18 lat</b>	<b>Dorośli i seniorzy</b>	<b>Ciąża i laktacja</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1000 IU (25 µg)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dzieci 1–10 lat</li> <li>◆ 2000 IU (50 µg)</li> <li>• Dzieci 11–18 lat</li> <li>◆ 4000 IU (100 µg)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4000 IU (100 µg) - masa ciała w normie</li> <li>• 10000 IU (250 µg) - otyłość</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4000 IU (100 µg)</li> </ul>



*Vidas*

**Prawidłowy poziom Witaminy D warunkuje nie tylko zdrowe kości**

Niedobór witaminy D w okresie dziecięcym może powodować opóźnienie wzrostu oraz choroby kości. U osób dorosłych niedobór witaminy D może przyspieszać lub nasilać osteoporozę i osteoporozę oraz zwiększać ryzyko złamań.<sup>1</sup>

Witamina D może również odgrywać rolę w zmniejszeniu ryzyka wielu chorób przewlekłych, w tym pospolitych nowotworów, chorób autoimmunologicznych, chorób zakaźnych oraz chorób układu krążenia.<sup>1</sup>



**VIDAS® 25 OH Vitamin D Total**

- > Wykrywanie zarówno witaminy D<sub>2</sub> oraz D<sub>3</sub>
- > Bardzo dobra korelacja ze spektrometrią masową LC-MS /MS
- > Brak koniecznych czynności przedanalizacyjnych

DOSTĘPNY NA ANALIZATORACH: VIDAS®, MINI VIDAS® ORAZ VIDAS® 3

VIDAS® 25 OH Vitamin D Total	
Nr katalogowy	30463
Zawartość zestawu	60 testów
Rodzaj próbki	Surowica lub osocze





# Ocena przydatności testu Rapidec® Carba NP w wykrywaniu karbapenemaz w szczepach karbapenemoopornych

Dr n. med. Aneta Guzek  
Kierownik Pracowni Mikrobiologii  
Warszawa, Wojskowy Instytut Medyczny

Szybkie narastanie oporności na antybiotyki ma charakter globalny stanowiąc coraz większe zagrożenie we współczesnej opiece medycznej zarówno w krajach UE jak i na całym świecie.

Według danych Europejskiego Centrum Profilaktyki i Kontroli Zakażeń (ang. European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) z powodu zakażeń wywołanych przez bakterie odporne na wszystkie dostępne antybiotyki, w Unii Europejskiej umiera co roku około 25 tysięcy pacjentów. Na całym świecie szacowana liczba to ok. 700 tysięcy rocznie.

Istnieje ścisła korelacja między narastaniem i szerzeniem się oporności a konsumpcją antybiotyków. W krajach, które ograniczyły konsumpcję antybiotyków zaznaczył się wyraźny spadek odsetka szczepów opornych (kraje skandynawskie, Holandia), natomiast tam gdzie zużycie antybiotyków nadal rośnie, wzrasta również rozpowszechnienie szczepów opornych (Grecja, Włochy, Hiszpania).

Szczególnie niepokojąca jest sytuacja epidemiologiczna związana z szerzeniem się zjawiska oporności na antybiotyki, zwłaszcza karbapenemy, wśród pałeczek Gram-ujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae* jak i *Non-Enterobacteriaceae* (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*). Karbapenemy należą do najaktywniejszych antybiotyków beta-laktamowych, opornych na hydrolizę przez większość klinicznie ważnych beta-laktamaz, takich jak ESBL czy AmpC. Są często określane jako leki „ostatniej szansy” w leczeniu ciężkich zakażeń wywołanych przez pałeczki Gram-ujemne, szczególnie na oddziałach intensywnej terapii.

Oporność na karbapenemy u pałeczek Gram-ujemnych stanowi poważny problem kliniczny i może być związana z:

- zmniejszeniem przepuszczalności osłon komórkowych w wyniku modyfikacji profili kanałów porynowych
- wypompowywaniem leków na zewnątrz komórki bakteryjnej dzięki aktywności systemów pompowo-porynowych tzw. mechanizm efflux
- produkcją enzymów hydrolizujących karbapenemy tzw. karbapenemaz

Mechanizm oporności na karbapenemy wynikający z nieprzepuszczalności osłon komórkowych nie jest

przekazywany i nie ma możliwości rozprzestrzeniania go wśród pacjentów. Dlatego takie szczepy karbapenemooporne stanowią mniejsze zagrożenie dla zdrowia publicznego. Ponadto oporność z powodu nieprzepuszczalności ma charakter niestabilny i może ulec zmianie na wrażliwość poprzez zaprzestanie presji antybiotykowej (po odstawieniu antybiotyku).

Z epidemiologicznego punktu widzenia zdolność do produkcji karbapenemaz jest najważniejszym mechanizmem oporności na karbapenemy. Geny oporności na karbapenemy zlokalizowane są w komórce bakteryjnej na ruchomych elementach genetycznych (np. plazmidach, transpozonach), co czyni je łatwo przekazywalnymi, zwłaszcza u pałeczek jelitowych wchodzących w skład flory fizjologicznej przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt. Dodatkowo pałeczki *Enterobacteriaceae* charakteryzują się wieloopornością typu MDR (ang. multi-drug resistant) oraz opornością na wszystkie dostępne antybiotyki tzw. PDR (ang. pandrug resistant). Karbapenemazy kodowane przez geny bla charakteryzują się zarówno najszerszym spektrum substratowym wśród wszystkich β-laktamaz jak i różnorodnością strukturalno-ewolucyjną. Według klasyfikacji Amblera wyróżniamy karbapenemazy klasy A, B, D. Różnice pomiędzy tymi enzymami są istotne klinicznie ze względu na różnice w ich profilach hydrolitycznych.

**Karbapenemazy klasy A** określane jako **KPC** (*Klebsiella pneumoniae Carbapenemase*) są obecnie enzymami o największym znaczeniu klinicznym na świecie. Kodowane przez geny plazmidowe warunkują oporność na wszystkie antybiotyki β-laktamowe (penicyliny, cefalosporyny, monobaktamy). Karbapenemazy typu KPC identyfikowane są w różnych gatunkach *Enterobacteriaceae* oraz w pałeczkach niefermentujących min. *Pseudomonas aeruginosa*.

**Karbapenemazy klasy B** tzw. **MBL** (**M**etallo-**β**-**l**actamases) należą do najbardziej wyspecjalizowanych i najaktywniejszych karbapenemaz. Do swojej aktywności enzymatycznej wymagają obecności jonów cynku jako kofaktorów reakcji hydrolizy pierścienia β-laktamowego. Geny kodujące MBL zlokalizowane są zarówno na chromosomie jak i plazmidach warunkując oporność na wszystkie penicyliny, cefalosporyny z wyjątkiem monobaktamów. Do MBL zaliczamy m.in. enzymy IMP, VIM oraz rozprzestrzeniający się obecnie w niesłychanym tempie **NDM-1** (**N**ew **D**elhi **M**etallo-**β**-**l**actamases)

**Karbapenemazy klasy D** czyli tzw. enzymy **CHDL** (Carbapenem-hydrolyzing class D  $\beta$ -lactamases) występują najczęściej u *Acinetobacter baumannii*, u których kodowane są głównie chromosomalnie. U *Enterobacteriaceae* spotykamy nabyte CHDL typu OXA-48 kodowane plazmidowo, których struktura jest znacząco różna od oksacylinaz *A. baumannii*.

Enzymy CHDL u *Enterobacteriaceae* cechuje stosunkowo słaba aktywność w stosunku do karbapenemów i konieczne jest współistnienie innych mechanizmów oporności na  $\beta$ -laktamy aby szczepy OXA-48 prezentowały fenotyp oporności jak KPC czy MBL.

Dodatkowo żaden z aktualnie dostępnych inhibitorów  $\beta$ -laktamaz jak sulbaktam, tazobaktam i kwas klawulany nie umożliwiają hamowania wspomnianych karbapenemaz.

Podstawą podejrzenia działania karbapenemazy jest analiza wyników testów lekowrażliwości. Obniżenie wrażliwości *in vitro* na którykolwiek z karbapenemów (imipenem, meropenem, ertapenem) jest sygnałem do wykonania testów identyfikacji mechanizmu MBL i KPC w szczepach bakterii niefermentujących oraz mechanizmu MBL, KPC, OXA-48 u *Enterobacteriaceae*. Wykrywanie aktywności karbapenemazy w wyhodowanym izolacie można prowadzić wykorzystując metody manualne (fenotypowe), biochemiczne, automatyczne, metody spektrometrii masowej w systemie MALDI TOF oraz molekularne. Testy molekularne jak i metody spektrometrii masowej przeprowadzane są głównie w ośrodkach referencyjnych jak i naukowych, natomiast w laboratoriach szpitalnych wykonuje się testy fenotypowe i biochemiczne. Do testów fenotypowych zaliczamy testy krążkowe (testy zbliżeniowe, testy kombinowane) mające na celu wykrycie odpowiedniej klasy karbapenemaz typu A, B lub D zgodnie z zaleceniami Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (KORLD).

Dostępne są również Etesty<sup>®</sup> MBL (bioMérieux) do wykrywania metalo- $\beta$ -laktamaz zarówno u pałeczek niefermentujących jak i pałeczek jelitowych.

Niesłuchanie pomocny w wykrywaniu karbapenemazy jest niedawno wprowadzony na rynek diagnostyczny kolorymetryczny test Rapidec<sup>®</sup> Carba NP (bioMérieux). Test Rapidec<sup>®</sup> Carba NP służy do szybkiego wykrywania karbapenemaz u bakterii Gram-ujemnych takich jak *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*. Składa się z gotowego paska ze studzienkami oznaczonymi jako a, b, c, d, e, w których kolejno występują następujące odczynniki: roztwór czerwieni fenolowej, kontrola zmętnienia, bufor lizujący, studzienka kontrolna bez imipenemu, studzienka kontrolna zawierająca imipenem. Test oparty jest na zasadzie opisanej przez Nordmann, Poirel i Dortet polegającej na wykryciu reakcji hydrolizy pierścienia  $\beta$ -laktamowego cząsteczki karbapenemu (imipenemu) na skutek enzymów (karbapenemaz) uwolnionych z komórek bakteryjnych. Hydroliza prowadzi do zakwaszenia roztworu, co powoduje z kolei zmianę koloru wskaźnika pH (czerwieni fenolowej).

Szczególną zaletą testu jest szybkie (do 2 godzin)

wykrywanie karbapenemazy u danego izolatu (identyfikacja fenotypu oporności KPC nawet w ciągu 30 min). Szybkie uzyskanie wyniku dodatniego umożliwia natychmiastowe wdrożenie procedur mających na celu zapobieganie rozprzestrzeniania się drobnoustrojów karbapenemazo-dodatnich w szpitalu np. poprzez izolację pacjentów. Rapidec<sup>®</sup> Carba NP wskazuje, że badany szczep produkuje karbapenemazę, ale nie umożliwia wykrycia określonej klasy karbapenemazy. W tym celu KORLD zaleca rozszerzenie diagnostyki o wspomniane powyżej metody fenotypowe, których wyniki uzyskuje się w ciągu 24 godzin od izolacji drobnoustroju. Dodatkowo należy pamiętać, że wadą ich jest niska czułość i swoistość, a współwystępowanie innych mechanizmów oporności w badanym szczepie może wpływać na ich fałszywy wynik. Szczepy wykazujące dodatnie lub wątpliwe wyniki testów w kierunku karbapenemaz należy przesłać do KORLD celem przeprowadzenia testów molekularnych na wykrycie genów kodujących określoną karbapenemazę. Ustalenie dokładnego typu karbapenemaz poprzez identyfikację genów wymagane jest szczególnie w czasie trwania epidemii (badania skринingowe u pacjentów z kontaktu celem szybkiego wykrycia nosicieli) oraz podczas nadzoru epidemiologicznego w celu monitorowania rozprzestrzeniania producentów karbapenemaz na poziomie lokalnym, regionalnym i krajowym.

## Cel badania

Ocena przydatności testu Rapidec<sup>®</sup> Carba NP w wykrywaniu karbapenemaz w szczepach karbapenemoopornych.

## Metodyka badania

Badaniu poddano 48 zidentyfikowanych pałeczek Gram-ujemnych oraz uznanych wg kryteriów EUCAST za średniowrażliwe lub odporne na karbapenemy. Szczepy te pochodziły z materiałów biologicznych (wymazy z ran n=16, mocz n=13, krew n=5, wymazy z odbytu n=5, końcówki cewnika centralnego n=4, wymazy z rurki intubacyjnej n=3, popłuczyny n=2) pobranych od pacjentów hospitalizowanych w Wojskowym Instytucie Medycznym. Identyfikacja gatunkowa szczepów została przeprowadzona z wykorzystaniem automatycznego systemu do oznaczenia identyfikacji i lekowrażliwości, Vitek 2 (bioMérieux). Łącznie badanie objęło 18 gatunków pałeczek Gram-ujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella pneumoniae* n=13, *Escherichia coli* n=3, *Citrobacter freundii* n=2) (**Tabela 1**) oraz 30 gatunków z rodziny *Non-Enterobacteriaceae*, w tym *Pseudomonas aeruginosa* n=11 (**Tabela 2**) oraz *Acinetobacter baumannii* n=19 (**Tabela 3**).

Analizowane szczepy średniowrażliwe lub odporne na karbapenemy poddano testom fenotypowym mającym na celu wykrycie produkcji określonej karbapenemazy klasy A, B, D postępując zgodnie z zaleceniami KORLD. Test na obecność MBL wykonano z zastosowaniem krążków: imipenem (10  $\mu$ g), ceftazydym (30  $\mu$ g) i EDTA jako inhibitora metalo- $\beta$ -laktamaz. W detekcji produkcji enzymu z rodziny KPC wykorzystano kwas boronowy jako inhibitora tego enzymu oraz krążki meropenemu

(10 µg). Do identyfikacji szczepów wytwarzających karbapenemazę typu OXA-48 zastosowano krążek z temocyliną (30 µg). Odczyt testów fenotypowych przeprowadzono po 24 godzinach inkubacji.

Szczepy pałeczek Gram-ujemnych przesłano do Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów celem wykrycia metodą PCR genów kodujących karbapenemazy

Wszystkie analizowane izolaty przechowywano w Pracowni Mikrobiologii w kriobankach w temperaturze -20°C. Przed przystąpieniem do badań szczepy zbankowane w kriobankach rewitalizowano poprzez 2-krotny pasaż na agarze Columbia (bioMérieux), inkubując hodowlę przez 24 godziny w temperaturze 37°C, w warunkach tlenowych. Po inkubacji dla każdego szczepu wykonano biochemiczny test Rapidec® Carba NP (bioMérieux). Badanie przeprowadzono bezpośrednio z hodowli na podłożu Agar Columbia (bioMérieux) postępując zgodnie z metodyką producenta. Całkowity czas

inkubacji testu wynosił 2 godziny. Odczytu dokonywano wzrokowo po 30 minutach, zaś w przypadku ujemnego lub niejednoznacznego wyniku reakcji przeprowadzono ponowną inkubację i wykonano ponowny odczyt po 1,5 i po 2 godzinach porównując studzienkę kontrolną bez imipenemu ze studzienką reakcyjną zawierającą imipenem. Wynik dodatni manifestował się w postaci zmiany barwy widocznej gołym okiem z koloru czerwonego na żółty/pomarańczowy/czerwono pomarańczowy w studzience reakcyjnej w porównaniu do czerwonej studzienki kontrolnej. Wynik dodatni wskazujący na produkcję karbapenemazy najszybciej uzyskano dla rodziny *Enterobacteriaceae* (<30 min) zaś dla *Non-Enterobacteriaceae* w ciągu 1,5 - 2 godzin.

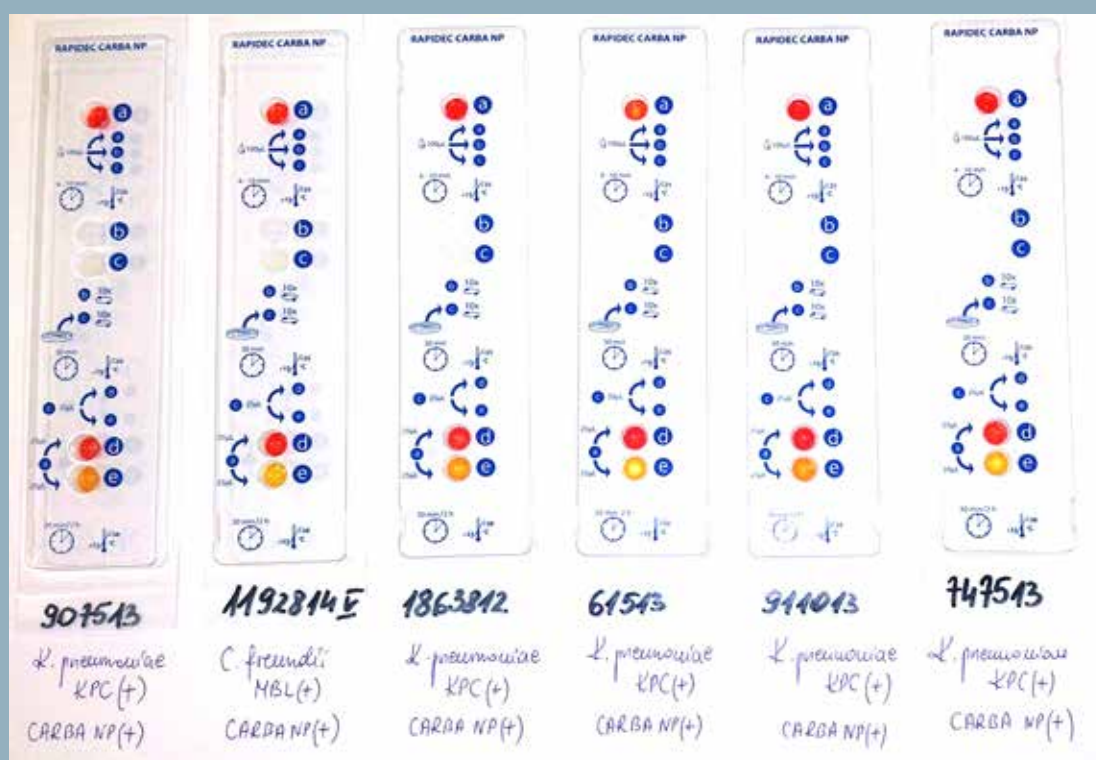
Brak zmiany koloru w ciągu 2 godzin wskazywał na nieobecność enzymów hydrolizujących karbapenemy (studzienka kontrolna i reakcyjna posiadały barwę czerwoną).

## WYNIKI

**Tabela 1.** Wyniki testów wykrywających karbapenemazy u *Enterobacteriaceae*

<b>Enterobacteriaceae</b>															
Lp.	Nr badania	Materiał	Gatunek	MIC (Vitek 2)			Metoda fenotypowa wykrywania karbapenemazy			Rapidec® Carba NP	Metoda molekularna (PCR)				
				Imipenem	Meropenem	Ertapenem					bla KPC	bla NDM	bla OXA-48	bla VIM	bla IMP
1	143415	mocz	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>=16 R	4 I	>=8 R	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	256315	mocz	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 I	4 I	>=8 R	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	671615 II	wymaz z rany	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8 I	>=16 R	>=8 R	-	+	-	+	-	+	-	-	
4	1953514	krew	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 I	4 I	>=8 R	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	350714	wymaz z rany	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	+	-	-	+	+	-	-	-	
6	747513	wymaz z odbytu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	+	-	-	+	+	-	-	-	
7	907513	wymaz z rany	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	+	-	-	+	+	-	-	-	
8	911013	wymaz z odbytu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	+	-	-	+	+	-	-	-	
9	334113	mocz	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	+	-	-	+	+	-	-	-	
10	1160413	mocz	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	+	-	-	+	+	-	-	-	
11	61513	krew	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	+	-	-	+	+	-	-	-	
12	1863812	wymaz z odbytu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	+	-	-	+	+	-	-	-	
13	612815	wymaz z odbytu	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	-	-	+	+	-	-	+	-	
14	671615 III	wymaz z rany	<i>Escherichia coli</i>	4 I	>=16 R	4 R	-	+	-	+	-	+	-	-	
15	711515	wymaz z odbytu	<i>Escherichia coli</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	-	+	-	+	-	+	-	-	
16	1616413	wymaz z rany	<i>Escherichia coli</i>	1 I	12 R	>=8 R	-	-	-	-	-	-	-	-	
17	385215	popłuczyny oskrzelowe	<i>Citrobacter freundii</i>	>=16 R	>=16 R	>=8 R	+	-	-	+	+	-	-	-	
18	1192814	wymaz z rany	<i>Citrobacter freundii</i>	>=16 R	4 I	4 R	-	+	-	+	-	+	-	-	

R-resistant (oporny), I-intermediate (średniowrażliwy), S- susceptible (wrażliwy)



**Fot.1.** Wyniki dodatnie testu Rapidec® Carba NP dla *Enterobacteriaceae*.

Za pomocą testu Rapidec® Carba NP wykryto 14 szczepów produkujących karbapenemazę spośród 18 gatunków *Enterobacteriaceae*. Wyniki dodatnie testu (**Fot.1**) po inkubacji uzyskano w ciągu 30 min w porównaniu do metody fenotypowej, w której po 24 godzinach od izolacji szczepów wykryto karbapenemazę klasy A - KPC u *Klebsiella pneumoniae* n=8, *Citrobacter freundii* n=1; klasy B - MBL u *Klebsiella pneumoniae* n=1, *Escherichia coli* n=2, *Citrobacter freundii* n=1, oraz klasy D- OXA-48 u 1 gatunku *Klebsiella pneumoniae*.

Potwierdzenie uzyskanych rezultatów stanowią wyniki badania molekularnego przeprowadzonego przez KORLD z zastosowaniem metody PCR ze specyficznymi starterami na wykrycie genów kodujących określoną karbapenemazę (uzyskano 9 genów bla KPC, 4 geny bla NDM, 1 gen bla OXA-48).

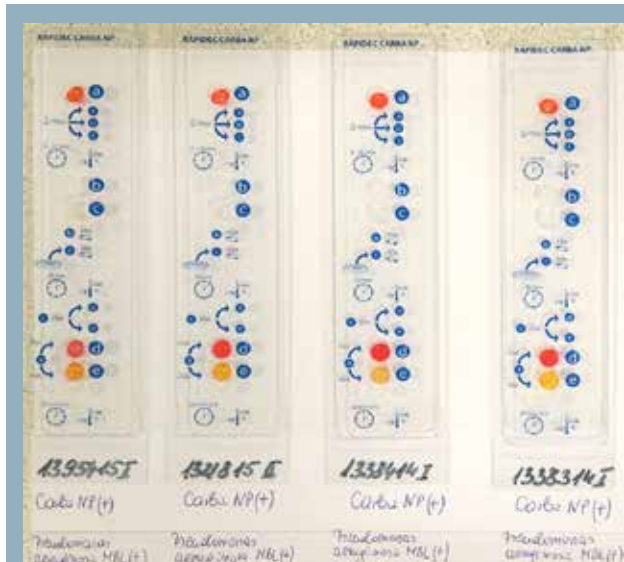
4 szczepy z obniżoną wrażliwością na karbapenemy były negatywne w teście Rapidec® Carba NP podobnie jak w badaniu fenotypowym i molekularnym.

Wyniki testu Rapidec® Carba NP okazały się wiarygodne.

**Tabela 2.** Wyniki testów wykrywających karbapenemazy u *Pseudomonas aeruginosa*.

Non-Enterobacteriaceae - <i>Pseudomonas aeruginosa</i>									
Lp.	Nr badania	Materiał	Gatunek	MIC (Vitek 2)		Metoda fenotypowa wykrywania karbapenemaz			Rapidec® Carba NP.
				Imipenem	Meropenem	KPC	MBL	OXA-48	
1	1338414 I	wymaz z rany	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>=16 R	>=16 R	-	+	-	+
2	1338314 I	wymaz z rany	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>=16 R	>=16 R	-	+	-	+
3	1395415 I	mocz	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>8 R	>8 R	-	+	-	+
4	646615	rurka intubacyjna	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>=16 R	>=16 R	-	+	-	+
5	1275115	mocz	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>8 R	>8 R	-	+	-	+
6	1321815 II	mocz	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>8 R	>8 R	-	+	-	+
7	1382315	mocz	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>8 R	>8 R	-	+	-	+
8	591815	mocz	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>=16 R	>=16 R	-	+	-	+
9	1382215	rurka intubacyjna	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>8 R	>8 R	-	+	-	+
10	1384715 II	wymaz z rany	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>8 R	>8 R	-	+	-	+
11	1474715	końcówka wkłucia	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>8 R	>8 R	-	+	-	+

R-resistant (oporny), I-intermediate (średniowrażliwy), S- susceptible (wrażliwy)



**Fot.2.** Wyniki dodatnie testu Rapidec® Carba NP dla *Pseudomonas aeruginosa*.

Wszystkie izolaty *Pseudomonas aeruginosa* (n=11) były pozytywne w teście Rapidec® Carba NP (**Fot.2**) analogicznie jak testy fenotypowe w kierunku produkcji enzymów MBL.

**Tabela 3.** Wyniki testów wykrywających karbapenemazy u *Acinetobacter baumannii*.

Non-Enterobacteriaceae - <i>Acinetobacter baumannii</i>														
Lp.	Nr badania	Materiał	Gatunek	MIC (Vitek 2)		Metoda fenotypowa wykrywania karbapenemaz			Rapidec® Carba NP	Metoda molekularna (PCR)				
				Imipenem	Meropenem					bla KPC	bla NDM	bla OXA-48	bla VIM	bla IMP
1	1585415	rurka intubacyjna	<i>Acinetobacter baumannii</i>	8I	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
2	1226415	mocz z cewnika	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
3	1716915	wymaz z rany	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
4	1667415	wymaz z rany	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
5	1665515	wymaz z rany	<i>Acinetobacter baumannii</i>	8I	4I	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	1748715	wymaz z rany	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
7	1724115	końcówka wkłucia	<i>Acinetobacter baumannii</i>	8I	4I	-	-	-	+	-	-	-	-	+
8	1685715	krew	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
9	1647815	mocz	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
10	1684515	krew	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
11	1617415	krew	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
12	1659415	popłuczyny oskrzelowe	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
13	1758215	wymaz z rany	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
14	1794915	wymaz z rany	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
15	1724115	końcówka wkłucia	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	1726415	mocz	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
17	1787115	wymaz z rany	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
18	1717715	końcówka wkłucia	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+
19	1716915	wymaz z rany	<i>Acinetobacter baumannii</i>	>8R	>8R	-	-	-	+	-	-	-	-	+

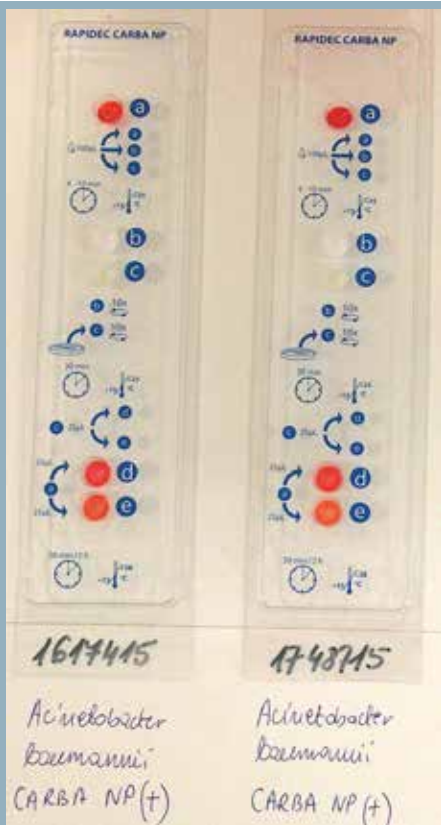
R-resistant (oporny), I-intermediate (średniowrażliwy), S- susceptible (wrażliwy)



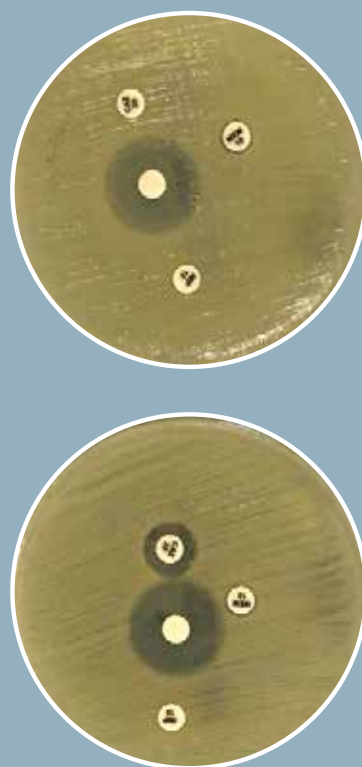
**Fot.3.** Wyniki dodatnie testu Rapidec® Carba NP dla *Acinetobacter baumannii*.



**Fot.3a.** Fenotypowy test w kierunku MBL wynik negatywny.



**Fot.4.** Wyniki dodatnie testu Rapidec® Carba NP dla *Acinetobacter baumannii*.



**Fot.4a.** Fenotypowy test w kierunku MBL wynik negatywny.

Spośród 19 szczepów *Acinetobacter baumannii* u 17 izolatów stwierdzono zmianę zabarwienia wskaźnika z barwy czerwonej na czerwono-pomarańczową w okresie 2 godzin (**Fot.3, 4**). Ponieważ wyniki testów fenotypowych w kierunku produkcji MBL były negatywne (**Fot.3a i 4a**) szczepy zostały przekazane do KORLD celem weryfikacji wyniku. Po przeprowadzeniu reakcji PCR ze specyficznymi starterami uzyskano potwierdzenie wyników testu Rapidec® Carba NP. U 17 gatunków *A. baumannii* wykryto geny bla<sub>IMP</sub>, co potwierdza wyniki uzyskane testem Rapidec® Carba NP. Test ten wskazuje na lepszą jego czułość i specyficzność w porównaniu do metod fenotypowych.

Analizując uzyskane wyniki badania należy stwierdzić, iż Rapidec® Carba NP jest testem, który powinien być rekomendowany do włączenia do rutynowej diagnostyki mikrobiologicznej celem szybkiego wykrywania aktywności karbapenemaz zarówno u pałeczek jelitowych jak i niefermentujących. Zastosowanie w laboratorium mikrobiologicznym testu Rapidec® Carba NP wraz z testami fenotypowymi zdecydowanie zwiększa wiarygodność wyników oznaczania karbapenemaz. Jest to niesłychanie istotne zwłaszcza w okresie największego wyzwania w zakresie epidemiologii lekooporności drobnoustrojów.



BE **S.M.A.R.T.** WITH RESISTANCE™



**RAPIDEC® CARBA NP**

**Lider w wykrywaniu  
karbapenemaz**

# FluoroType MTB nowy test genetyczny w diagnostyce mikrobiologicznej gruźlicy

**Agnieszka Napiórkowska,  
Ewa Augustynowicz-Kopeć**  
Zakład Mikrobiologii,  
Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Według Światowej Organizacji Zdrowia 1/3 populacji ludzkiej zakażona jest prątkiem gruźlicy, a choruje na nią co roku 8-9 mln ludzi. Każdego roku z powodu tej w pełni wyleczalnej choroby umiera 2-3 mln ludzi, a 95% nowych zachorowań i 98% zgonów z jej powodu przypada na ubogie kraje Trzeciego Świata, gdzie większość zachorowań na gruźlicę dotyka ludzi młodych w wieku produkcyjnym. Gruźlica pozostaje wciąż istotnym problemem zdrowotnym w skali globalnej – obok AIDS i malarii jest jedną z najczęściej występujących chorób zakaźnych.

Do najważniejszych czynników, które negatywnie wpływają na sytuację epidemiologiczną gruźlicy należą: rozprzestrzenianie się wirusa HIV, wzmożony napływ imigrantów z krajów o wysokim współczynniku zapadalności na gruźlicę, miejsca o niskim standardzie socjalnym takie jak więzienia, obozy dla uchodźców czy przytułki dla bezdomnych. Problemem jest również nabywanie nowych cech lekooporności przez szczepy prątków gruźlicy, jak również długa diagnostyka mikrobiologiczna. Bakterioskopia jest metodą szybką i prostą w wykonaniu, jednak posiada bardzo niską czułość, natomiast wykrycie prątków w materiale od chorego metodami hodowlanymi, które mają wyższą czułość, zajmuje czasem nawet kilka tygodni. Sprawia to, że niektóre przypadki gruźlicy nie są odpowiednio wcześnie wykrywane, a chory prątkujący staje się źródłem transmisji w swoim otoczeniu.

Rozwój biologii molekularnej oraz opracowanie testów amplifikacji kwasów nukleinowych pozwoliło na udoskonalenie metod bezpośredniego wykrywania prątków gruźlicy z materiałów klinicznych. Techniki te umożliwiają wykrywanie i identyfikację *M. tuberculosis complex* z większą czułością i w krótszym czasie niż metodami konwencjonalnymi, co ma szczególne znaczenie w przypadkach trudnych do zdiagnozowania postaci gruźlicy pozapłucnej jak również w przypadku materiałów skąpoprątkowych od dzieci, czy materiałów pobieranych inwazyjnie.

W pierwszych testach genetycznych opracowanych na początku lat 90., w których zastosowano metody amplifikacji w oparciu o sekwencje genu IS6110, brakowało utrzymania standardowych warunków na różnych etapach reakcji. Sytuację, całkowicie zmieniło wprowadzenie wystandaryzowanych, komercyjnie dostępnych,

zamkniętych systemów genetycznych.

Obecnie najnowszym, systemem do diagnostyki molekularnej gruźlicy jest system FluoroCycler® firmy Hain Lifescience. Badanie genetyczne wykonywane z zastosowaniem testu FluoroType MTB, wykrywa DNA *Mycobacterium tuberculosis complex* bezpośrednio z materiałów klinicznych pochodzących z układu oddechowego, jak również innych materiałów takich jak: mocz, popłuczyny żołądkowe, płyn z opłucnej, płyn mózgowo-rdzeniowy oraz tkanki.

Test FluoroType MTB oparty jest na technologii HyBeacon. Procedura składa się z dwóch etapów: ekstrakcji mykobakteryjnego DNA zawartego w materiałach klinicznych oraz jego amplifikacji z użyciem specyficznych starterów. Następnie do powstałych produktów PCR przyłączają się sondy HyBeacon wyznakowane fluorescencyjnie, które są komplementarne do sekwencji specyficznych dla *M. tuberculosis complex*. W kolejnym etapie badania mierzony jest spadek fluorescencji, a wyniki obrazowane są w postaci krzywej topnienia. Wyniki testu dostępne są w ciągu 3 godzin, a ich ocena wykonywana jest przez odpowiednie oprogramowanie systemu. W aparacie FluoroCycler® cykl amplifikacji i wykrywania materiału genetycznego prątków należących do *Mycobacterium tuberculosis complex* jest całkowicie zautomatyzowany, co zapewnia niezwykłą łatwość wykonania testu.

Celem pracy było określenie przydatności testu genetycznego FluoroType MTB (Hain Lifescience) do wykrywania *M. tuberculosis complex* bezpośrednio w materiałach klinicznych. W pracy została określona czułość i specyficzność metody, jak również wiarygodność testu poprzez porównanie otrzymanych wyników z danymi uzyskanymi za pomocą hodowli, tzw. złotego standardu w diagnostyce mikrobiologicznej gruźlicy.

## Materiały i metody:

Ocenę przydatności testu FluoroType MTB w diagnostyce molekularnej gruźlicy wykonano w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie – Krajowym Referencyjnym Laboratorium Prątka. Analizę przeprowadzono na 70 materiałach klinicznych pochodzących od chorych podejrzanych o gruźlicę.



Wśród analizowanych materiałów 67% (47) stanowiły materiały pochodzące z układu oddechowego takie jak: wydzielina oskrzelowa (20/28,6%) płwocina (14/20%), popłuczyny oskrzelowe (6/8,6%), BAL (6/8,6%) oraz popłuczyny żołądkowe (1/1,4%). Pozostałe materiały (23/33%) pochodziły od chorych podejrzanych o gruźlicę pozapłucną i były to: fragmenty tkanek (11/15,7%), płyn z opłucnej (5/7,1%), płyn mózgowo-rdzeniowy (2/2,9%), płyn z ucha środkowego (2/2,9%), płyn puchlinowy (1/1,4%), płyn stawowy (1/1,4%) oraz płyn z węzła chłonnego (1/1,4%) (**Tabela 1**).

**Tabela 1.** Rodzaj materiałów klinicznych wykorzystanych do badań.

	Materiał kliniczny	Liczba (%)
Materiały płucne 47/67%	wydzielina oskrzelowa	20 (28,6%)
	płwocina	14 (20,0%)
	popłuczyny oskrzelowe	6 (8,6%)
	BAL	6 (8,6%)
	popłuczyny żołądkowe	1 (1,4%)
Materiały pozapłucne 23/33%	fragment tkanek	11 (15,7%)
	płyn z opłucnej	5 (7,1%)
	płyn mózgowo-rdzeniowy	2 (2,9%)
	płyn z ucha środkowego	2 (2,9%)
	płyn puchlinowy	1 (1,4%)
	płyn stawowy	1 (1,4%)
	płyn z węzła chłonnego	1 (1,4%)
	<b>Ogółem</b>	<b>70 (100%)</b>

Wszystkie materiały kliniczne poddano analizie mikrobiologicznej z zastosowaniem konwencjonalnych metod diagnostycznych tj. bakterioskopii, hodowli oraz identyfikacji gatunkowej. Hodowlę prowadzono na pożywkach stałych (Löwensteina-Jensena, Stonebrinka) oraz na pożywkach płynnych Middlebrook'a w systemie automatycznym Bactec MGIT (Becton Dickinson). Przynależność do gatunku wyizolowanych szczepów określano w oparciu o test TBc ID MGIT (Becton Dickinson) oraz test GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience).

## Wyniki:

W analizowanej puli 70 materiałów klinicznych 10% (7) stanowiły materiały z dodatnim wynikiem bakterioskopii. Dodatni wynik badania genetycznego FluoroType MTB uzyskano z 14 materiałów (20%), natomiast w 17 przypadkach (24%) obecność prątków potwierdzono metodą hodowli. 13 z wyizolowanych szczepów należało do *Mycobacterium tuberculosis* complex, a pozostałe 4 do grupy MOTT w tym 2 szczepy *M. avium* oraz po 1 szczepie *M. kansasii* i *M. xenopii*. Z dalszej analizy odrzucono 1 materiał kliniczny, ze względu na kontaminację hodowli inną florą bakteryjną.

Na podstawie analizy porównawczej wyników badania genetycznego FluoroType MTB oraz wyników hodowli w 64 (91%) przypadkach stwierdzono zgodność uzyska-

nych wyników. Dla 14 materiałów z dodatnim wynikiem badania genetycznego, potwierdzenie w hodowli uzyskano w 11 przypadkach, z czego 5 stanowiły materiały z dodatnią bakterioskopią. Ujemny wynik testu FluoroType MTB w 49 przypadkach korelował z ujemnym wynikiem hodowli, a w 4 przypadkach w tym 2 z dodatnią bakterioskopią z wyizolowaniem prątków należących do grupy MOTT (**Tabela 2**).

Wyniki rozbieżne w obu metodach uzyskano w 5 przypadkach. W przypadku 2 materiałów klinicznych tj. wydzieliny oskrzelowej i fragmentu tkanki, wynik badania genetycznego był negatywny; a metodą hodowli wyizolowano prątki należące do *M. tuberculosis* complex. Natomiast w przypadku 3 materiałów klinicznych tj. węzła chłonnego oraz 2 wydzielin oskrzelowych uzyskano dodatni wynik badania genetycznego FluoroType MTB, który nie został potwierdzony w hodowli (**Tabela 2**).

**Tabela 2.** Porównanie wyników badań w kierunku gruźlicy uzyskanych za pomocą testu genetycznego FluoroType MTB oraz hodowli z uwzględnieniem wyników bakterioskopii.

HODOWLA*	FluoroType MTB		
	POZYTYWNY	NEGATYWNY	ŁĄCZNIE
MTBC	11	2	13
AFB (+)	5	0	5
AFB (-)	6	2	8
MOTT	0	4**	4
AFB (+)	0	2	2
AFB (-)	0	2	2
UJEMNA	3	49	52
ŁĄCZNIE	14	55	69

\* MTBC *Mycobacterium tuberculosis* complex, AFB (ang. Acid Fast Bacilli) bakterioskopia, MOTT (ang. Mycobacterium Other Than Tuberculosis) prątki atypowe

\*\* w tym *M. avium* (2 szczepy), *M. kansasii* (1), *M. xenopii* (1 szczep)

Na podstawie uzyskanych wyników obliczono czułość i specyficzność testu FluoroType MTB, jak również pozytywną i negatywną wartość predykcyjną. W pracy czułość FluoroType MTB została określona na poziomie 85%, a specyficzność na poziomie 95%. Pozytywna wartość predykcyjna (PPV) wynosiła 79% a negatywna (NPV) 96%.

Określając czułość i specyficzność testu FluoroType MTB z uwzględnieniem materiałów z dodatnim wynikiem bakterioskopii nie stwierdzono wyników rozbieżnych pomiędzy badaniem genetycznym a hodowlą. W tym przypadku czułość i specyficzność jak również pozytywna i negatywna wartość predykcyjna zostały określone na poziomie 100%.

W przypadku materiałów, w których nie stwierdzono prątków w rozmazie bezpośrednim, czułość testu wynosiła 75%, specyficzność 94%, natomiast pozytywna i negatywna wartość predykcyjna kolejno 66% i 96% (**Tabela 3**).

**Tabela 3.** Czułość, specyficzność PPV i NPV testu genetycznego FluoroType MTB z wyszczególnieniem materiałów z dodatnią i ujemną bakterioskopią

AFB	Liczba materiałów (%)				Czułość	Specyficzność	PPV	NPV
	Hodowla MTBC		Hodowla non-MTBC					
	FT (+)	FT (-)	FT (+)	FT (-)				
(+)	5 (45%)	0	0	2 (4%)	100%	100%	100%	100%
(-)	6 (55%)	2 (100%)	3 (100%)	51 (96%)	75%	94%	66%	96%
<b>ŁĄCZNIE</b>	11	2	3	53	85%	95%	79%	96%

\* MTBC *Mycobacterium tuberculosis complex*, non-MTBC hodowla ujemna lub prątki atypowe, AFB (ang. Acid Fast Bacilli) bakterioskopia, FT FluoroType MTB, PPV pozytywna wartość predykcyjna, NPV negatywna wartość predykcyjna

## PODSUMOWANIE

Test FluoroType MTB firmy Hain Lifescience jest testem genetycznym pozwalającym na znaczne przyspieszenie oraz usprawnienie diagnostyki mikrobiologicznej gruźlicy. Test jest prosty w wykonaniu, a wyniki dostępne są już w ciągu 4 godzin od momentu dostarczenia materiału do laboratorium prątków. Ponadto test przeznaczony jest do diagnostyki nie tylko materiałów pochodzących z układu oddechowego, ale również innych, co ma szczególne znaczenie w trudnych do zdiagnozowania przypadkach gruźlicy pozapłucnej.

FluoroType MTB charakteryzuje się wysokim poziomem czułości i specyficzności. Na podstawie przeprowadzonych badań czułość i specyficzność testu została określona na poziomie 85% i 95%. Uzyskane wyniki są zbliżone do danych prezentowanych w piśmiennictwie, gdzie czułość i specyficzność testu FluoroType MTB określana jest na poziomie : 88,1% i 98,9%, 95,1% i 96,4%.

Przy omawianiu wyników czułości i specyficzności FluoroType MTB należy podkreślić, że testy genetyczne stanowią szybkie potwierdzenie gruźlicy w przypadku dodatniej bakterioskopii. Dane literaturowe, jak również przedstawiona analiza wyników badań własnych wykazała, że czułość testu FluoroType MTB dla materiałów z dodatnią bakterioskopią wynosi 100%.

Należy przy tym zwrócić uwagę na fakt, że metody genetyczne służą nie tylko do potwierdzenia obecności prątków gruźlicy przy dodatnich wynikach bakterioskopii lub hodowli. Przede wszystkim są wysoce czułą metodą diagnostyczną na wykrycie *Mycobacterium tuberculosis complex* w materiałach skąpoprątkowych, dla których w większości przypadków wynik bakterioskopii jest ujemny. W niniejszej analizie taką sytuację zaobserwowano dla 3 materiałów skąpoprątkowych (węzła chłonnego oraz 2 wydzielin oskrzelowych), w których obecność prątków gruźlicy potwierdzono jedynie metodą genetyczną.

Analizując korelację wyników pomiędzy badaniem genetycznym FluoroType MTB oraz metodą hodowli nie sposób pominąć przypadków, gdzie obecność

*M. tuberculosis complex* została potwierdzona jedynie metodą hodowli, a wynik badania genetycznego był ujemny. Taką sytuację zaobserwowano w przypadku 2 materiałów klinicznych: wydzieliny oskrzelowej oraz fragmentu tkanki. Co mogło być przyczyną uzyskania takich wyników? Najprawdopodobniej przyczyną była obecność w materiałach klinicznych inhibitorów takich jak: leki, glikoproteiny, mucyna (główny składnik śluzu) i krew. Krew, a przede wszystkim zawarta w niej hemoglobina zaliczana jest do podstawowych inhibitorów reakcji amplifikacji i mimo procedury opracowania materiału mogą się w nim znajdować jej śladowe ilości, które negatywnie wpływają na jakość testu. Niewykluczone, że w tych przypadkach wpływ na obniżenie czułości testu mogła mieć również szczególnie gruba, woskowa ściana komórkowa prątków, która zawsze ogranicza wydajność uzyskania kwasu nukleinowego.

Podsumowując wyniki przeprowadzonej analizy stwierdzono:

1. Test FluoroType MTB jest testem czułym i specyficznym, który pozwala skrócić czas diagnostyki chorego z podejrzeniem gruźlicy.
2. Test przeznaczony jest do diagnostyki materiałów pochodzących od chorych z podejrzeniem gruźlicy płuc i postaci pozapłucnych.
3. Czułość i specyficzność testu FluoroType MTB została określona na poziomie 85% i 95%.
4. Czułość testu FluoroType MTB dla materiałów z dodatnią bakterioskopią wynosi 100%.
5. Test jest prosty w wykonaniu, a wyniki dostępne są już w ciągu 4 godzin od momentu dostarczenia materiału do laboratorium prątków.
6. **Należy jednak pamiętać, że testy genetyczne nie powinny zastępować innych metod, ale je uzupełniać. Dlatego przy wykonaniu testu genetycznego należy wykonać również bakterioskopię i założyć hodowlę.**

# D-dimer jako narzędzie określające czas terapii antykoagulantami w samoistnej żylnej chorobie zakrzepowo-zatorowej (ŻChZZ)

## Algorytm decyzyjny HERDOO2

### NAJISTOTNIEJSZE FAKTY:

- Obecnie brak jest wytycznych mówiących o optymalnym czasie trwania leczenia doustnymi antykoagulantami u pacjentów z ŻChZZ
- Prosty algorytm decyzyjny HERDOO2 oparty na pomiarze stężenia D-Dimerów, danych demograficznych i klinicznych pozwala na ocenę ryzyka dla samoistnej ŻChZZ
- Algorytm ten pozwala zidentyfikować około 25% pacjentów z samoistną ŻChZZ, którzy mogą bezpiecznie przerwać leczenie przeciwzakrzepowe po okresie 5-7 miesięcy
- Bezpieczeństwo i skuteczność stosowania tego algorytmu jest walidowana w badaniu REVERSE II

Optymalny czas trwania terapii doustnymi antykoagulantami jest ważnym pytaniem dotyczącym postępowania z pacjentami z samoistną ŻChZZ, które dotychczas pozostaje bez odpowiedzi <sup>(1)</sup>.

Decyzja o czasie trwania leczenia doustnymi antykoagulantami musi wynikać z oceny ryzyka nawrotu ŻChZZ, wraz z oceną ryzyka poważnego krwawienia (1-3% przypadków rocznie wśród pacjentów leczonych). Należy wziąć pod uwagę, że wskaźnik śmiertelności jest 2-3 razy większy w przypadkach poważnego krwawienia niż w przypadkach nawrotu ŻChZZ (Tabela 1) <sup>(2)</sup>.

→ U pacjentów z ŻChZZ spowodowaną przejściowym i odwracalnym czynnikiem ryzyka, takim jak zabieg chirurgiczny, uraz, przedłużone unieruchomienie, zalecany jest krótki okres przyjmowania doustnych antykoagulantów (< 3 miesięcy) ponieważ ryzyko zgonu z powodu poważnego krwawienia jest wyższe niż z powodu nawrotu ŻChZZ (tabela 1) <sup>(3)</sup>.

→ U pacjentów z dużym ryzykiem nawrotu ŻChZZ (np. przy towarzyszącej chorobie nowotworowej) zalecane jest przedłużenie czasu terapii doustnymi antykoagulantami ponieważ ryzyko zgonu z powodu ŻChZZ przewyższa ryzyko zgonu z powodu poważnego krwawienia (Tabela 1) <sup>(3)</sup>.

→ Samoistna ŻChZZ i/lub prowokowana nieznanym czynnikiem ryzyka może stanowić do 50% przypadków wśród pierwszorazowych epizodów ŻChZZ <sup>(1)</sup>. W porównaniu z wywołaną znanym czynnikiem ryzyka ŻChZZ, tacy pacjenci mają około 2-krotnie większe ryzyko nawrotów po zakończeniu terapii przeciwzakrzepowej. Aby działanie takie było zasadne ryzyko zgonu z powodu ŻChZZ powinno przeważać ryzyko zgonu z powodu poważnego krwawienia. Oceniając ryzyko zgonu z powodu nawrotu ŻChZZ lub z powodu poważnego krwawienia brak jest jasnych wytycznych dotyczących kontynuacji lub zaprzestania leczenia przeciwzakrzepowego (tabela 1).

Tabela 1. Ocena ryzyka nawrotu, przypadki poważnego krwawienia i odsetek śmiertelności wraz z rekomendacjami dotyczącymi trwania terapii przeciwzakrzepowej

Etiologia ŻChZZ	Przypadki nawrotu w pierwszym roku (bez leczenia przeciwzakrzepowego)		Przypadki poważnego krwawienia w pierwszym roku (z leczeniem przeciwzakrzepowym)		Rekomendacja
	(%)	Przypadki śmiertelne na 1000 *	(%)	Przypadki śmiertelne na 1000 **	
Znany czynnik ryzyka	3	0.9	2	1.8	Krótkotrwała terapia przeciwzakrzepowa (< 3 miesięcy)
Samoistna	6	1.8	2	1.8	Minimum 6 miesięczna terapia przeciwzakrzepowa lub dłuższa
Stale występujący czynnik ryzyka (np. choroba nowotworowa)	12	3.6	2	1.8	Dłuższy, nieokreślony czas terapii przeciwzakrzepowej

\*Wskaźnik śmiertelności 3% \*\*Wskaźnik śmiertelności 9%

## Stratyfikacja ryzyka w ŻChZZ: algorytm decyzyjny HERDOO2 służący do identyfikacji pacjentów, u których można bezpiecznie zakończyć leczenie doustnymi antykoagulantami<sup>(4)</sup>.

Postępowanie ukierunkowane jest na zindywidualizowaną analizę pacjentów, w celu ograniczenia niepożądanych skutków leczenia przeciwzakrzepowego poprzez identyfikację pacjentów, którzy już takiej terapii nie wymagają. Pojedyncze czynniki prognostyczne, takie jak określone stężenie D-dimerów nie są w takich przypadkach wystarczające ponieważ nie pozwalają wyodrębnić grupy z odpowiednio niskim odsetkiem nawrotów ŻChZZ (<3%), aby uzasadniało to zakończenie terapii przeciwzakrzepowej<sup>(1, 3)</sup>. Łatwy w zastosowaniu algorytm opracowany na podstawie badania REVERSE<sup>▲</sup> w ocenie pacjentów bierze pod uwagę stężenie D-Dimerów oraz dane kliniczne i demograficzne (Tabela 2). Badanie potwierdziło wcześniej udokumentowane większe ryzyko nawrotu choroby u mężczyzn (ryc. 1), ale jednocześnie nie można określić żadnych czynników predykcyjnych w celu identyfikacji mężczyzn z niskim ryzykiem takiego nawrotu. Wśród kobiet, według badania HERDOO2 można zidentyfikować podobnej wielkości podgrupy wysokiego i niskiego ryzyka (ryc. 1).

Ryzyko nawrotu ŻChZZ w ciągu jednego roku u kobiet z maksymalnie jednym czynnikiem ryzyka wydaje się wystarczająco niskie (<3%), aby uzasadnić bezpieczne przerwanie terapii przeciwzakrzepowej po okresie trwania 5-7 miesięcy. W toku jest duże międzynarodowe i wielośrodkowe badanie prospektywne, które ma na celu potwierdzenie bezpieczeństwa tego postępowania<sup>(5)</sup>.

▲ REcurrent VEinous thromboembolism Risk Stratification Evaluation.

Tabela 2. HERDOO2 – algorytm decyzyjny

U kobiet z maksymalnie 1 czynnikiem ryzyka z poniższej listy można bezpiecznie zakończyć leczenie doustnymi antykoagulantami po okresie 5-7 miesięcy:

- Symptomy pozakrzepowe:  
Hiperpigmentacja, Obrzęk, Zaczerwienienie obu nóg
- D-dimer  $\geq 250 \mu\text{g/L}$
- Otyłość (BMI  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ )
- Wiek  $\geq 65$  years

#### UWAGA

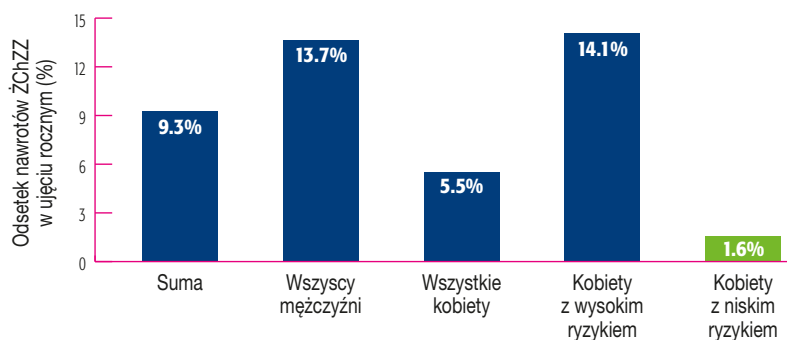
Wszystkie czynniki prognostyczne są oceniane podczas gdy pacjent jest nadal poddawany leczeniu przeciwzakrzepowemu po okresie 5-7 miesięcy. Bezpieczeństwo i skuteczność stosowania tej zasady jest potwierdzane w badaniu REVERSE II (ClinicalTrials.gov Identyfikator: NCT00967304).

Rycina 1. Przypadki nawrotowej samoistnej ŻChZZ w ujęciu rocznym – stratyfikacja ryzyka według badania HERDOO2<sup>(4)</sup>.

Kohorta badania (n=646) składa się z 332 mężczyzn (51%) i 314 kobiet (49%).

Kobiety z wysokim ryzykiem: z dwoma lub więcej czynnikami ryzyka według kryteriów HERDOO2 (n=151; 23%)

Kobiety z niskim ryzykiem: z maksymalnie 1 czynnikiem ryzyka według kryteriów HERDOO2 (n=163; 25%).



## Marc A. Rodger MD

Ottawa Hospital Research Institute, Ottawa, Kanada.

“ Algorytm decyzyjny według HERDOO2 zapewni lekarzom proste narzędzie do wiarygodnej identyfikacji 1 na 4 pacjentów z samoistną ŻChZZ i z niskim ryzykiem ponownego epizodu ŻChZZ, u których można bezpiecznie zakończyć leczenie przeciwzakrzepowe. Czekamy na wyniki prowadzonego badania REVERSE II zatwierdzającego bezpieczeństwo tego algorytmu, który może istotnie zmienić dotychczasową praktykę kliniczną. ”

## BIBLIOGRAFIA

1. Rodger M, Carrier M, Gandara E, Le Gal G. Unprovoked venous thromboembolism: Short term or indefinite anticoagulation? Balancing long-term risk and benefit. *Blood Rev.* 2010;24:171-8.
2. Carrier M, Le Gal G, Wells PS, Rodger MA. Systematic review: case-fatality rates of recurrent venous thromboembolism and major bleeding events among patients treated for venous thromboembolism. *Ann Intern Med.* 2010;152:578-89.
3. Wells PS, Forgie MA, Rodger MA. Treatment of venous thromboembolism. *JAMA.* 2014;311:717-28.
4. Rodger MA, Kahn SR, Wells PS, et al. Identifying unprovoked thromboembolism patients at low risk for recurrence who can discontinue anticoagulant therapy. *CMAJ.* 2008;179:417-26.
5. REVERSE II study; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00967304.

# Wyższa skuteczność testu D-dimer w bezpiecznym wykluczaniu zatorowości płucnej

Na podstawie ADJUST-PE Study – nowe wartości odcięcia testu dostosowane do wieku pacjenta

## NAJISTOTNIEJSZE FAKTY:

- Największe w historii badanie prospektywne pacjentów ambulatoryjnych z podejrzeniem zatorowości płucnej (ZP) (19 szpitali w 4 krajach, 3324 pacjentów).
- Weryfikacja 6 różnych testów D-dimer na 2898 pacjentach z niewysokim prawdopodobieństwem występowania choroby.
- 12% więcej pacjentów wykluczonych z dalszej diagnostyki z zastosowaniem wartości odcięcia dostosowanej do wieku w porównaniu z tradycyjną wartością odcięcia.
- Najsilniejszy efekt nowego algorytmu w grupie pacjentów powyżej 75 roku życia (4,6-krotnie wyższy wskaźnik wykluczenia z dalszej diagnostyki).
- Zachowane bezpieczeństwo algorytmu wykluczającego.

«Wysokoczuły test D-dimer w połączeniu z oceną klinicznego prawdopodobieństwa występowania choroby jest zalecany jako pierwszy krok diagnostyczny u pacjentów z podejrzeniem zatorowości płucnej stabilnych hemodynamicznie. Wiele przeprowadzonych badań prospektywnych wykazało, że taka strategia pozwala na bezpieczne wykluczenie ZP u około 1/3-ciej podejrzanych pacjentów bez potrzeby dalszych badań obrazowych takich jak tomografia komputerowa czy angiografia płucna<sup>(2)</sup>.

Stężenie D-dimerów zwiększa się fizjologicznie wraz z wiekiem dlatego, ich zastosowanie jako narzędzia do wykluczenia ZP jest w takiej populacji ograniczone<sup>(3)</sup>. W trzech dużych grupach kohortowych (n = 5132), pacjentów z niewysokim prawdopodobieństwem zatorowości płucnej, 59% pacjentów w wieku poniżej 50 lat miało poziomy stężenia D-dimerów poniżej standardowej wartości odcięcia 500 ng / L, podczas gdy w grupie pacjentów powyżej 70 lat było to jedynie 12%<sup>(4)</sup>. Zarówno grupa wiekowa <50 lat i grupa > 70 lat stanowiły po około 1/3 wszystkich pacjentów z podejrzeniem ZP w tej kohorcie. W celu udoskonalenia strategii wykluczania ZP u starszych wiekiem pacjentów, przy zachowaniu jej bezpieczeństwa, badacze zatwierdzili prosty algorytm wykorzystujący wartości odcięcia dostosowane do wieku, uzyskany poprzez retrospektywną analizę danych badanej grupy pacjentów<sup>(4)</sup>:



Dzięki temu algorytmowi uzyskano względny wzrost odsetka pacjentów wykluczonych z dalszej diagnostyki o 15% (z 39% do 45%). W grupie pacjentów powyżej 70 lat odsetek ten został podwojony (od 12% do 27%), bez znaczącego wpływu na negatywną wartość predykcyjną (NPV) takiego algorytmu<sup>(4)</sup>.

Niemniej jednak implementacja do praktyki klinicznej algorytmu wykluczania zatorowości płucnej z użyciem dostosowanej do wieku wartości odcięcia testu D-Dimer wymagała odpowiednich badań prospektywnych. Cel ten zrealizowano w badaniu ADJUST-PE wykonanym w 19 szpitalach na terenie Belgii, Francji, Holandii i Szwajcarii<sup>(5)</sup>.

W badaniu ADJUST-PE wzięło udział łącznie 3324 pacjentów (występowanie ZP wynosiło 19%) co oznacza, że było to największe badanie dotyczące pacjentów ambulatoryjnych z podejrzeniem zatorowości płucnej. Stężenie D-dimerów było określane za pomocą 6 różnych testów ilościowych w grupie 2898 (87%) pacjentów zakwalifikowanych do grupy niewysokiego ryzyka (za pomocą zmodyfikowanej skali Genewskiej) lub do grupy z mało prawdopodobną ZP (za pomocą skali Wells'a).

Pacjenci uzyskujący ujemny wynik D-Dimerów interpretowany na podstawie dostosowanej do wieku wartości odcięcia pozostawali bez leczenia antykoagulantami. Potencjalny odsetek niepowodzenia diagnostycznego oceniano w okresie kolejnych 3 miesięcy pod kątem nawracających epizodów żylny choroby zakrzepowo-zatorowej. Badanie to prowadzone było przez niezależną komisję (Tabela 1).

## EFEKTYWNOŚĆ:

Wzrost odsetka wykluczenia zatorowości płucnej

Dla wszystkich 6 badanych testów D-dimer łącznie odsetek wykluczenia ZP wzrósł istotnie z 28,2% do 39,8% ( $p < 0,0001$ ) co oznacza względny wzrost o 41%.

Najsilniejszy efekt obserwowano u pacjentów w wieku  $\geq 75$  lat ( $n = 673$ ; 23% pacjentów) gdzie zanotowano prawie 5-krotny wzrost odsetka wykluczenia ZP z 6,4% do 29,7%.

## BEZPIECZEŃSTWO:

Dopuszczalny 3-miesięczny wskaźnik niepowodzenia diagnostycznego

Zwiększona skuteczność nie wpływa na bezpieczeństwo algorytmu ponieważ wskaźnik niepowodzenia diagnostycznego u pacjentów z wartością D-dimerów  $\geq 500$  ng / ml, ale poniżej wartości odcięcia dostosowanej do wieku wyniósł tylko 0,3% (95% CI 0.1-1.7), a zatem z górna granica 95% przedziału ufności jest znacznie poniżej akceptowalnego marginesu bezpieczeństwa wynoszącego 3%.

Tabela 1: Wyniki badania według testów D-Dimer (według Righini M., et al. JAMA. 2014;311:1117-24)

Test D-Dimer	Liczba pacjentów w niewysokim ryzykiem lub mało prawdopodobną ZP	D-Dimer <500 µg/L	3-miesięczne ryzyko zakrzepicy		D-Dimer $\geq 500$ ng / ml, ale niższy niż punkt odcięcia dostosowany do wieku	3-miesięczne ryzyko zakrzepicy	
			Liczba przypadków/ Ilość pacjentów	% (95% CI)		Liczba przypadków/ Ilość pacjentów	% (95% CI)
VIDAS® D-Dimer Exclusion™	1345	423	0/417	0.0 (0.0-0.9)	130	0/127	0.0 (0.0-2.9)
Innovance D-Dimer	838	202	1/202	0.5 (0.1-2.8)	103	1/103	1.0 (0.2-5.3)
STA-Liatest D-Dimer	389	132	0/132	0.0 (0.0-2.8)	49	0/47	0.0 (0.0-7.6)
D-Dimer HS 500	185	32	0/31	0.0 (0.0-11.0)	23	0/23	0.0 (0.0-14.3)
Second-generation Tina-quant	128	26	0/26	0.0 (0.0-12.9)	32	0/31	0.0 (0.0-11.0)
Cobas h 232	13	2	0/2	0.0 (0.0-65.8)	0		
Łącznie	2898	817	1/810	0.1 (0.0-0.7)	337	1/331	0.3 (0.1-1.7)

### Marc Righini, MD;

Zakład Angiologii i Hemostazy, Szpital Uniwersytecki w Genewie i Wydział Lekarski, Genewa, Szwajcaria

“*Badanie ADJUST-PE przekonująco pokazuje, że w porównaniu z tradycyjną wartością odcięcia dla D-Dimerów, stosowanie wartości odcięcia dostosowanej do wieku pozwala na wykluczenie z dalszej diagnostyki znacznie większej liczby pacjentów, zwłaszcza w podeszłym wieku, z zachowaniem bezpieczeństwa całego algorytmu, który jest obecnie rutynowo stosowany w naszym szpitalu.*”

### BIBLIOGRAFIA

- Konstantinides SV, et al.; Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology. 2014 ESC guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Eur Heart J. 2014;35:3033-69, 3069a-3069k.
- Carrier M, et al. VIDAS D-dimer in combination with clinical pre-test probability to rule out pulmonary embolism. A systematic review of management outcome studies. Thromb Haemost. 2009;101:886-92.
- Harper PL, et al. D-dimer concentration increases with age reducing the clinical value of the D-dimer assay in the elderly. Intern Med J. 2007;37:607-13.
- Douma RA, et al. Potential of an age adjusted D-dimer cut-off value to improve the exclusion of pulmonary embolism in older patients: a retrospective analysis of three large cohorts. BMJ. 2010;340:c1475.
- Righini M, et al. Age-adjusted D-dimer cutoff levels to rule out pulmonary embolism: the ADJUST-PE study. JAMA. 2014;311:1117-24.

Czy wiesz, że...

Vidas

High Sensitive  
Troponin I

Nowość w ofercie



Każdego roku na całym świecie  
**16 milionów** osób umiera z powodu  
chorób sercowo-naczyniowych, szczególnie z  
powodu ataku serca lub udaru<sup>(1)</sup>



Ból w klatce piersiowej jest jednym z  
**10 najważniejszych** powodów  
trafiania do izby przyjęć, co stanowi około 5%  
wszystkich przyjęć<sup>(2)</sup>



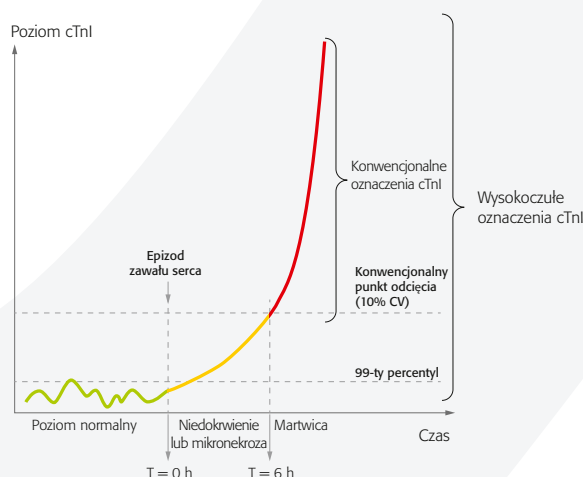
Oczekiwana częstość występowania ostrego zawału mięśnia sercowego w  
przypadkach bólu w klatce piersiowej<sup>(3)</sup>

**5-10%**  
STEMI\*

**15-20%**  
NSTEMI\*\*

## Optimalizacja postępowania w przypadkach ostrego ACS\*\*\* z wykorzystaniem wysokoczułych oznaczeń troponiny<sup>(4)</sup>

- Nowa generacja wysokoczułych oznaczeń troponiny (cTn) pozwala wcześniej wykryć ostry zawał mięśnia sercowego dzięki kolejnym oznaczeniom przeprowadzanym w ciągu pierwszych 3 godzin.
- Wysokoczułe testy cTnI pozwalają na serię dokładnych pomiarów poniżej 99 percentyla, oraz na stwierdzenie minimalnych zmian w czasie jednej lub dwóch godzin. Umożliwiło to rozwój algorytmów pozwalających na wykluczenie zawału mięśnia sercowego w ciągu 2 godzin.



### Diagnoza

- Obligatoryjne narzędzie uzupełniające ocenę kliniczną i badanie EKG w celu poprawnej diagnostyki zawału serca.
- Kolejne oznaczenia wykonywane w celu odróżnienia ostrego zawału mięśnia sercowego od przewlekłego uszkodzenia kardiomiocytów.

### Stratyfikacja ryzyka

Dodatkowe narzędzie do stratyfikacji ryzyka w celu wspomoczenia decyzji terapeutycznych.

\* ST – segment elevation myocardial infarction – zawał serca z uniesieniem odcinka ST

\*\* Non – ST – segment elevation myocardial infarction – zawał serca bez uniesienia odcinka ST

\*\*\* Acute Coronary Syndrome – Ostry zespół wieńcowy

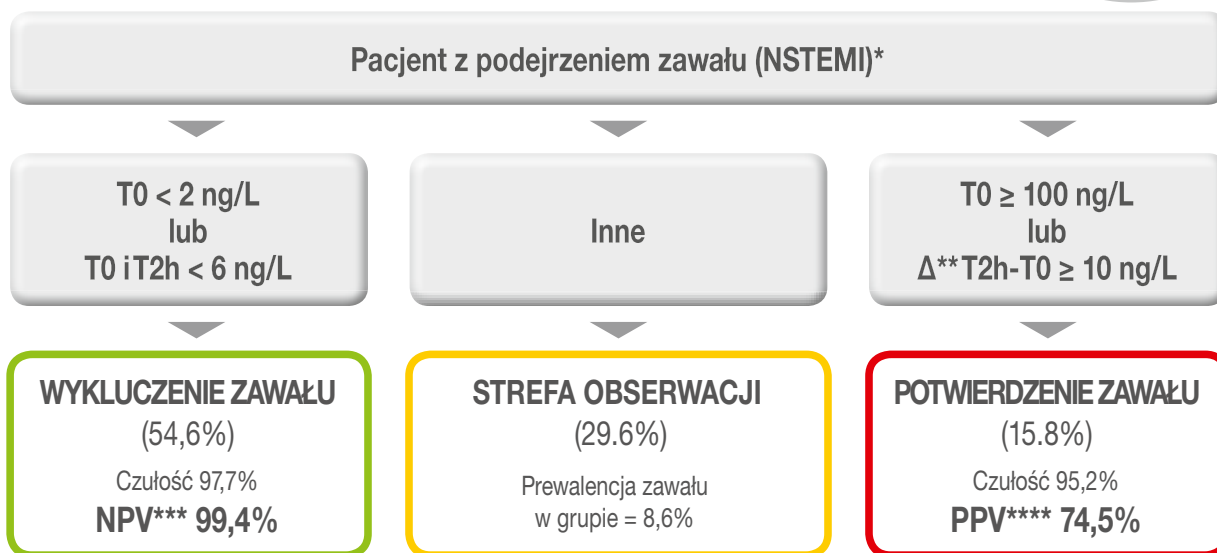
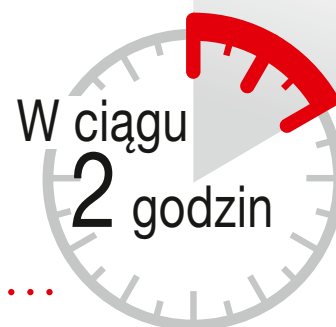
## Wysoka jakość analityczna

### Przeznaczenie:

- Pomoc w diagnostyce zawału mięśnia sercowego.
- Pomoc w stratyfikacji ryzyka u pacjentów z objawami sugerującymi ACS w odniesieniu do wszystkich przyczyn zgonów i poważnych incydentów sercowych obejmujących uszkodzenie mięśnia sercowego i rewaskularyzację w ciągu 30 dni.



## Przyspieszona selekcja pacjentów z dużą dokładnością diagnostyczną



- Algorytm oparty na wartości cTnI przy przyjęciu i zmianach stężenia w ciągu 2 godzin.
- Pozwala na bezpieczne potwierdzenie lub wykluczenie zawału serca (NSTEMI) w grupie 70% diagnozowanych pacjentów z bólem w klatce piersiowej.
- Skraca czas selekcji pacjentów z bólem w klatce piersiowej na izbie przyjęć (pozwala na uniknięcie wielokrotnych oznaczeń związanych z wielokrotnym pobieraniem krwi).

\* Badanie przeprowadzone na grupie 592 pacjentów  
 \*\* Negatywna wartość predykcyjna

\*\*\* Różnica w stężeniu troponiny.  
 \*\*\*\* Pozytywna wartość predykcyjna.

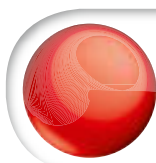


# Vidas



Oznaczenie dostępne na analizatorach:  
VIDAS<sup>®</sup>, mini VIDAS<sup>®</sup>, VIDAS<sup>®</sup> 3

	VIDAS <sup>®</sup> High sensitive Troponin I
Numer katalogowy	415386
Ilość testów w zestawie	60
Czas oznaczenia	20 minut
Próbka	Surowica, osocze
Objętość próbki	200 µL
Jednostka	ng/L
Zakres pomiarowy	4,9 – 40 000 ng/L
Granica oznaczalności (LoQ)	2,9-4,9 ng/L
Granica wykrywalności (LoD)	1,3-3,2 ng/L
Wartość ślepa (LoB)	0,0-1,9 ng/L
Precyzja (99-ty percentyl dla zdrowej populacji)	19 ng/L ; CV = 7,0%
Częstość kalibracji i kontroli	co 28 dni



PANEL KARDIOLOGICZNY

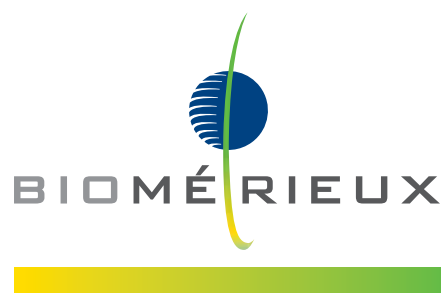
**High sensitive Troponin I, NT-proBNP2, Galectin-3,  
CK-MB, Myoglobin, Digoxin**

BIBLIOGRAFIA

1. Lozano R, et al. Lancet.2012;380:2095-128.
2. Bandstein N, et al. J Am Coll Cardiol. 2014;63:2569-78.
3. Mueller C, et al. Eur Heart J. 2015 Aug 29. pii: ehv409. [Epub ahead of print]
4. Roffi M, et al. Eur Heart J. 2015 Aug 29. pii: ehv320. [Epub ahead of print]



Zarejestruj się w serwisie  
[www.myvidas.com](http://www.myvidas.com)



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