

SPIS TREŚCI

- 3 Rola diagnostyczna białka C-reaktywnego (CRP)
Diagnostic role of C-reactive protein (CRP)
Dagna Bobilewicz

- 5 Białko C-reaktywne (CRP) w diagnostyce infekcji
u noworodków
C-reactive protein (CRP) in diagnosis of infection
in newborns
Teresa Laskowska-Kłita

- 11 Wskaźniki zapalenia w diagnostyce laboratoryjnej
chorób układu kostno-stawowego
Inflammatory markers in laboratory diagnosis
of osteoarthritis
Grażyna Odrowąż-Sypniewska

- 17 Ocena analizatora hematologicznego
ABX Micros CRP
Performance evaluation of the ABX Micros CRP
hematological analyzer
*Monika Maciuk-Janik, Beata Wojtysiak-Duma,
Dariusz Duma*

Wydawca IN VITRO EXPLORER
ABX Diagnostics Polska Sp. z o.o.
Wał Miedzeszyński 598, 03-994 Warszawa,
+48 (22) 673 20 22, +48 (22) 673 20 26

Redaktor koordynujący:
dr Beata Olszewska,
e-mail: bolszewska@pl.abx.fr

Redakcja: Maria Domagała
Projekt graficzny: Aleksandra Król
Skład i łamanie: Wojciech Zych

Nakład: 1000 egz.

ROLA DIAGNOSTYCZNA BIAŁKA C-REAKTYWNEGO (CRP)

DIAGNOSTIC ROLE OF C-REACTIVE PROTEIN (CRP)

Dagna Bobilewicz

Streszczenie

Białko CRP jest uznanym wskaźnikiem reakcji ostrej fazy i jego wartość diagnostyczna, dzięki rozwojowi możliwości technicznych szybkich oznaczeń, stała się szczególnie istotna dla wczesnego rozpoznawania infekcji bakteryjnych w różnych stanach klinicznych.

Słowa kluczowe

Białko C-reaktywne, wartość diagnostyczna, infekcje bakteryjne.

Summary

CRP is the recognised laboratory indicator of the acute phase reaction and the development of new fast testing techniques has increased its diagnostic value, which is especially important for early diagnosis of bacterial infections in various clinical conditions.

Keywords

CRP, diagnostic value, bacterial infections.

Białko C-reaktywne (CRP), opisane w latach 30. XX wieku, składa się z pięciu identycznych podjednostek polipeptydowych nie zawierających węglowodanów, a jego masa cząsteczkowa wynosi od 115 do 140kD. Ruchliwość elektroforetyczna CRP zależy od zawartości jonów wapnia w buforze i zawiera się w zakresie od gamma- do beta-globulin. CRP jest syntetyzowane w wątrobie, a jednym z najsilniejszych mediatorów jego syntezy jest interleukina-6 (IL-6).

W obecności wapnia ma zdolności wiązania się z fosfocholiną, glikoproteinami bogatymi w galaktozę, a także błonami komórkowymi mikroorganizmów i uszkodzonymi komórkami. W formie związanej aktywuje klasyczny system dopełniacza i nasila fagocytozę, odgrywając istotną rolę w reakcjach obronnych organizmu. Mimo że rola CRP w warunkach fizjologicznych nie jest w pełni wyjaśniona, wiadomo, że białko to bierze udział w nieswoistej odpowiedzi organizmu na działające bodźce, takie jak:

- rozległe uszkodzenia tkanek (urazy, zabiegi chirurgiczne, poród, również fizjologiczny);
 - martwica tkanek (np. ostre zapalenie trzustki, oparzenia, martwica mięśnia sercowego);
 - infekcje bakteryjne, w mniejszym stopniu wirusowe.
- Stężenie CRP w wyniku tzw. reakcji ostrej fazy rośnie w kilka godzin od chwili zadziałania bodźca, jeszcze przed wystąpieniem objawów klinicznych oraz zmian

w innych parametrach laboratoryjnych, jak leukocytoza czy OB, i ze względu na krótki czas półtrwania (12-24 godzin) ulega obniżeniu w ciągu 72 godzin licząc od chwili, kiedy bodziec przestaje działać. Taki przebieg zmian jest typowy np. dla planowych operacji przebiegających bez powikłań, porodu fizjologicznego czy miejscowej infekcji szybko opanowanej przez podanie antybiotyków. Przy długotrwałym działaniu bodźca (np. pooperacyjne powikłania bakteryjne, stany septyczne, przewlekłe choroby układowe, kiła, gruźlica, choroby nowotworowe) podwyższone, a nawet bardzo wysokie stężenie CRP utrzymuje się aż do usunięcia przyczyny, a brak tendencji do spadku jego poziomu może być złym wskaźnikiem rokowniczym. Mimo że produkcja CRP w wątrobie może wzrosnąć aż 1000-krotnie (z 1 mg do 1 g na dobę), stężenie CRP nie zawsze jest proporcjonalne do stanu klinicznego, szczególnie w chorobach przewlekłych. I tak np. w toczniu układowym nawet przy wyraźnych objawach zapalenia jest ono zazwyczaj niższe niż np. w reumatoidalnym zapaleniu stawów czy chorobie Crohna, również w infekcjach wirusowych jest znacznie niższe niż w zakażeniach bakteryjnych.

Chociaż CRP zostało wykryte ponad 70 lat temu, jego oznaczenia weszły w zakres badań rutynowych i znalazły szerokie zastosowanie diagnostyczne dopiero w połowie lat 80, z chwilą opracowania metody immunoturbidymetrycznej, opartej na reakcji antygen-przeciwciało,

zachodzącej w środowisku płynnym i możliwej do zautomatyzowania. Metoda ta, w przeciwieństwie do stosowanych uprzednio, takich jak immunodyszka radialna czy elektroforeza rakiolkowa, w których wynik uzyskiwało się najwcześniej po kilkunastu lub kilkudziesięciu godzinach, umożliwiła skrócenie czasu samego oznaczenia do kilku minut, co w sposób istotny zwiększyło wartość diagnostyczną uzyskiwanego wyniku, szczególnie w stanach nagłych. Oznaczenia wykonywane są przy nadmiarze przeciwciała, a ich czułość jest rzędu 1-1,5mg/l i może być zwiększona przez zastosowanie metody immunoturbidymetrycznej lub immunonefelometrycznej ze wzmocnieniem lateksem. Zwiększenie czułości do wartości poniżej 1mg/l jest nazywane metodą ultraczułą lub inaczej „ultraczułym CRP” (high sensitivity CRP - hsCRP). Zazwyczaj stężenia CRP są oznaczane w surowicy metodą turbidymetryczną, dostosowaną do ogólnie dostępnych analizatorów biochemicznych. Mając na uwadze głównie próbki pediatryczne, a także możliwość wykonywania oznaczeń w systemie zdecentralizowanym, w tym również w gabinetach lekarskich, wprowadzono czytniki umożliwiające manualne wykonywanie pojedynczych oznaczeń z kilku mikrolitrów pełnej krwi. Ostatnio również firma ABX Horiba włączyła pomiar CRP w krwi pełnej do badań wykonywanych na analizatorze hematologicznym Micros CRP, jednocześnie z morfologią i różnicowaniem leukocytów na 3 populacje.

Wartości prawidłowe w surowicy i krwi pełnej w odniesieniu do CRP jako białka ostrej fazy nie powinny przekraczać 10mg/l, na ogół u osób zdrowych, w tym również noworodków i dzieci, są poniżej 5mg/l. Opracowanie w ostatnich latach nowych, czulszych metod oznaczania pozwoliło przyjąć wartości poniżej 3mg/l jako punkt odcięcia dla hsCRP, które jest traktowane jako laboratoryjny czynnik ryzyka rozwoju zmian miażdżycowych. Wartości prawidłowe w krwi pępowinowej są około 4-krotnie niższe niż w surowicy noworodków.

Najczęściej obserwowane wartości CRP w stanach patologii na ogół mieszczą się w granicach 20-200mg/l, rzadko przekraczając 300mg/l. Brak jest dostatecznie udokumentowanych danych dotyczących stężeń białka w płynie mózgowo-rdzeniowym. Wiadomo natomiast,

że jego stężenie w surowicy jest miernie podwyższone w przebiegu ciąży fizjologicznej. W praktyce oznaczenia CRP znalazły najszersze zastosowanie w stanach klinicznych związanych z pierwotnymi zakażeniami bakteryjnymi, a także powikłaniami choroby zasadniczej, służąc nie tylko do rozpoznania, ale również monitorowania i prognozowania przebiegu choroby. W szczególności zaś są wykorzystywane w następujących przypadkach:

- rozpoznania zakażeń i stanów septycznych noworodków;
- u ciężarnych z przedwczesnym odejściem wód płodowych;
- różnicowania infekcji bakteryjnych i wirusowych, np. w zapaleniach opon mózgowych o nieznannej etiologii;
- monitorowania chorych po rozległych zabiegach operacyjnych, przeszczepach;
- wczesnego rozpoznania pierwotnych lub wtórnych zakażeń bakteryjnych w różnych stanach klinicznych, szczególnie wówczas, gdy inne wskaźniki, tak kliniczne, jak i laboratoryjne, mogą być z różnych przyczyn nieprzydatne;
- prognozowania i monitorowania ostrego zapalenia trzustki.

CRP w praktyce jest wykorzystywane również w diagnostyce niektórych chorób z autoagresji, a także traktowane jako nieswoisty marker nowotworowy. Należy również zwrócić uwagę na fakt, że oznaczanie CRP może przyczynić się do interpretacji wyników innych badań laboratoryjnych, jak np. żelaza, transferyny, ferrytyny, których stężenia mogą ulegać istotnym wahaniom w stanach ostrej fazy nawet przy miejscowych zmianach zapalnych, przez co nie odzwierciedlają rzeczywistej patologii, wykrycie której było celem badania. Osobny problem stanowi rola CRP jako czynnika ryzyka miażdżycy, któremu to zagadnieniu ostatnio poświęca się wiele prac.

Piśmiennictwo u autorki.

prof. Dagna Bobilewicz

*Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Wydziału Nauk o Zdrowiu
Akademii Medycznej w Warszawie
e-mail: dagna@amwaw.edu.pl*

BIĄŁKO C-REAKTYWNE (CRP) W DIAGNOSTYCE INFEKCJI U NOWORODKÓW

C-REACTIVE PROTEIN (CRP) IN DIAGNOSIS OF INFECTION IN NEWBORNS

Teresa Laskowska-Klita

Streszczenie

W pracy dyskutowana jest przydatność oznaczeń stężeń białka C-reaktywnego (CRP) dla potwierdzenia infekcji w okresie neonatalnym. Występujący fizjologicznie w pierwszych 3 dniach życia wzrost CRP we krwi jest wynikiem odpowiedzi ostrofazowej indukowanej procesem narodzin. Ogranicza to przydatność diagnostyczną jednorazowego oznaczenia stężenia tego białka. Wartość predykcyjną natomiast mają oznaczenia seryjne wykonywane w pierwszych 72 godzinach życia, pozwalające obserwować dynamikę zmian stężeń CRP. W diagnostyce infekcji u noworodków zaleca się obecnie równolegle z CRP oznaczanie stężeń innych białek ostrofazowych i/lub mediatorów stanów zapalnych. Oznaczanie CRP jest pomocne przy ocenie skuteczności i czasu stosowania terapii antybiotykami.

Słowa kluczowe

diagnostyka infekcji u noworodków, białko C-reaktywne (CRP), białka ostrofazowe.

Summary

The present paper discusses diagnostic value of C-reactive protein (CRP) in detection of early-onset neonatal infection. During the first 3 days of life the usefulness of CRP is limited because of its nonspecific increase related to the birth-induced acute-phase response. However, serial measurements of its concentration within the first 72 hours after birth are useful for the detection of bacterial infection in newborns. In order to confirm the diagnosis, combined measurements of CRP and other acute-phase proteins, as well as certain mediators of inflammation are recommended. CRP could serve as the key parameter for determining individual duration of antibiotic treatment of newborns with supposed infection.

Keywords

diagnosis of infection in newborns, C-reactive protein, acute-phase proteins.

Wczesne rozpoznanie zakażeń jest w praktyce neonatologicznej problemem diagnostycznie trudnym. Odnosi się to szczególnie do noworodków, u których - w odróżnieniu od pacjentów dorosłych, a nawet dzieci i niemowląt - kliniczne objawy infekcji są nikłe, mało specyficzne i charakteryzują się znaczną i szybką progresją.

Odrębności układu immunologicznego noworodków, jego niedojrzałość, w tym niska aktywność opsonizacyjna osocza i ograniczona aktywność neutrofilów, wyrażają się niską odpornością na zakażenia i skłonnością do jego uogólnienia. Rzuca to na wskaźniki stosowane w diagnostyce zakażeń, takie jak ocena

leukocytozy, stosunek form niedojrzałych do całkowitej liczby granulocytów (I/T) oraz stężenia białek ostrofazowych. W praktyce pediatrycznej wobec niespecyficznych wczesnych objawów zakażenia wyniki oznaczeń białka C-reaktywnego (CRP) w surowicy stanowią o podejrzeniu infekcji u noworodków i decydują o rozpoczęciu leczenia farmakologicznego przed uzyskaniem wyników potwierdzających.

Stężenie CRP u noworodków zależy od wielu czynników. Z doniesień w piśmiennictwie wynika, że nie przechodzi ono przez łożysko (1, 2). Niska zawartość tego białka w krwi pępowinowej wskazuje, że wzrastające podczas porodu stężenia CRP u matki

nie wpływają na jego poziom u noworodka (3). Marchini i wsp. (4) stosując ultraczułą metodę nefelometryczną oznaczającą CRP z dokładnością do 0,021mg/l obserwowali dwukrotnie wyższe ilości CRP w krwi pępowinowej noworodków urodzonych siłami natury niż po porodach cięciem cesarskim (0,07mg/l vs. 0,03mg/l). Autorzy wnioskują, że proces porodu indukuje u płodu i rodzącego się dziecka odpowiedź ostrofazową. Poród i adaptacja do życia pozałożowego stymulują u noworodka uwalnianie cytokin (IL-1, IL-6) i białek ostrofazowych (wzrost CRP, białka amyloidowego A, prokalcytoniny). Najwyższe wartości CRP występują w pierwszym dniu życia (średnia 4,97mg/l), spadają w drugim (3,03mg/l) i w trzecim (1,78mg/l), a w następnych dniach są niewykrywalne, nawet przy stosowaniu testów o bardzo wysokiej czułości.

Z badań Chiesy i wsp. (5) wynika, że u wcześniaków i noworodków urodzonych o czasie stężenia mediatorów stanów zapalnych i CRP zależą od wieku ciążowego, a nie od urodzeniowej masy ciała. Poziom CRP u noworodków należy więc odnosić do wartości referencyjnych opracowanych dla pierwszych godzin życia po urodzeniu z uwzględnieniem wieku płodowego. W badaniach tych autorów stwierdzono, że w surowicy krwi noworodków zdrowych urodzonych o czasie CRP występowało w ilościach 3,3mg/l, 4,7mg/l i 4,5mg/l, odpowiednio w momencie narodzin oraz w pierwszym i drugim dniu życia.

Skuteczność leczenia infekcji u noworodków, w tym szczególnie posocznicy, zależy od wczesnego wprowadzenia antybiotyków. Terapia ta, jak również czas leczenia nie są obojętne dla nie w pełni jeszcze rozwiniętego organizmu. Dotyczy to nie tylko noworodków urodzonych o czasie, lecz przede wszystkim dystroficznych, z małą masą urodzeniową i urodzonych przedwcześnie. Przy zastosowaniu tradycyjnych metod

immunoturbidymetrycznych podstawą podejrzenia infekcji najczęściej są stężenia CRP w surowicy krwi dziecka w zakresie 10-20mg/l.

Pojedyncze oznaczenia CRP mają jednak ograniczone znaczenie diagnostyczne szczególnie u dzieci znajdujących się w ciężkim stanie ogólnym z powodów nieinfekcyjnych, takich jak np. zespół aspiracji smółki, zaburzenia oddychania, krwawienia śródczaszkowe i inne. Opinia ta, chociaż coraz powszechniej akceptowana, nie sugeruje jednak zaprzestania oznaczeń CRP w badaniach potwierdzających podejrzenie infekcji. Z piśmiennictwa dotyczącego tego problemu wynika jednak, że wartości diagnostyczne testów CRP powinny być wzmocnione poprzez oznaczanie stężeń tego białka bądź w kilku kolejno pobranych próbkach, bądź też w panelach z innymi wskaźnikami stanu zapalnego. Preferowane są oznaczenia CRP łącznie z:

- mediatorami stanu zapalnego z grupy cytokin (interleukiny, TNF-alfa)
- wybranymi białkami ostrofazowymi.

Chiesa i wsp. (3, 5) stosując test hsCRP wykazali, że u noworodków z infekcją średnie stężenie CRP jest w okresie porodu rzędu 12mg/l, następnie wzrasta do 37mg/l w pierwszym i spada do 33mg/l w drugim dniu życia. Potwierdzenie infekcji poprzez wykonywanie oznaczeń CRP co 12 godzin zwiększa ich czułość z 35-65% dla pomiaru pierwszego do 74-97% dla pomiaru trzeciego, przy spadku swoistości z 96% do 86% (6). Ocena dynamiki zmian stężeń CRP jest lepszym markerem infekcji okresu neonatalnego (wartość predykcyjna 94%) niż leukocytoza. Opinię tę potwierdzają Hengst i wsp. (7) oraz Krueger i wsp. (8).

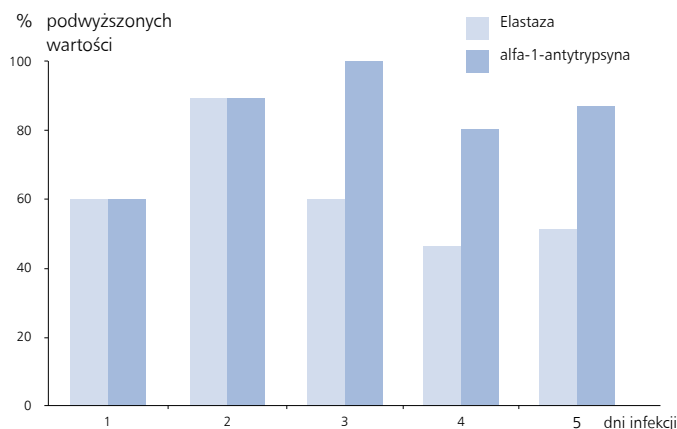
Intensywne badania ostatnich lat dotyczące roli cytokin jako wczesnych mediatorów stanów zapalnych zwróciły uwagę na ewentualną przydatność ich

oznaczania w diagnozowaniu infekcji u noworodków. Wykazano, że w krwi pępowinowej noworodków urodzonych przed 36. tygodniem ciąży oznaczenia IL-6 i IL-8 mogą potwierdzać podejrzenie infekcji z czułością 96% i 87% przy swoistości 95% i 94% - odpowiednio (5), (9). W krwi pępowinowej dzieci urodzonych o czasie, zdrowych i z zakażeniem, poziom cytokin jest zbliżony, zatem ich oznaczanie nie ma wartości diagnostycznej. Natomiast w surowicy krwi dziecka stężenia poszczególnych cytokin, a szczególnie IL-1-beta, IL-6, IL-8, IL-2 czy też TNF-alfa wzrastają znacząco w przypadkach zakażenia (5). Jednakże Santana Reyes i wsp. (10) badając noworodki z podejrzeniem infekcji wykazali, że czułość i swoistość oznaczeń IL-1-beta i IL-6 jest niska i wynosi odpowiednio 60% i 87%. Wartości te są nieco wyższe dla IL-8 (62-96%) i TNF-alfa (54-92%). Autorzy ci obserwowali jednak nieswoisty wzrost IL-8 w przypadkach kwasicy metabolicznej i hipoksemii u noworodków bez infekcji oraz prawidłowe stężenia u dzieci z zakażeniem, ale eksponowanych in utero na działanie sterydów aplikowanych leczniczo kobiecie ciężarnej. Wyniki te potwierdzają sugestie innych autorów, że oznaczanie pojedynczych cytokin we wczesnej diagnostyce infekcji okresu neonatalnego ma małą przydatność. Nieco większa wartość predykcyjna charakteryzuje oznaczanie cytokin łącznie z testem CRP. Romagnoli i wsp. (11), przyjmując za wartości fizjologiczne: dla IL-6 - mediana 208pg/ml, dla IL-10 - mediana 36pg/ml i dla CRP - mediana <2mg/l, odróżniali posocznice przy stężeniu IL-6 - mediana 1500pg/ml, IL-10 - mediana 113pg/ml i CRP - mediana 22mg/l, oraz zapalenie płuc przy stężeniach IL-6 - mediana 1500pg/ml, IL-10 - mediana 84pg/ml i CRP - mediana 10mg/l. Autorzy ci zauważyli również, że wysokie stężenia IL-10 (507pg/ml) i CRP (123mg/l)

związane są z progresją choroby, mogą być więc cenne jako wczesne wskaźniki prognostyczne. Przydatne jest zatem oznaczanie mediatorów stanów zapalnych i równocześnie CRP.

W piśmiennictwie ostatnich lat zwraca się uwagę na dużą wartość diagnostyczną oznaczeń CRP w panelu z innymi białkami ostrofazowymi. Najczęściej oznaczana jest elastaza neutrofilowa, alfa-1-antytrypsyna, białko amyloidowe A, haptoglobina, alfa-1-kwaśna glikoproteina oraz prokalcytonina (4). Wzrost stężenia elastazy i alfa-1-antytrypsyny wyprzedza w czasie wzrost CRP (12).

Elastaza, uwalniana w procesie fagocytozy z aktywowanych neutrofilów, jest w kompleksie z inhibitorem proteaz alfa-1-antytrypsyną jednym z najwcześniej wzrastających we krwi wskaźników stanu zapalnego. Podwyższone stężenie tego kompleksu obserwuje się w kilka godzin po zadziałaniu czynnika patogennego, a szczyt po około 24 godzinach. Wielu autorów podkreśla przydatność oznaczeń elastazy i alfa-1-antytrypsyny we wczesnej diagnostyce zakażeń u noworodków. Dużą wartość diagnostyczną tych białek u noworodków urodzonych o czasie i urodzonych przedwcześnie obserwowaliśmy w badaniach własnych (13). W krwi pępowinowej dzieci zdrowych urodzonych o czasie stężenie elastazy wynosiło 110µg/l, a u wcześniaków (37. tydzień ciąży) 41µg/l. U dzieci z infekcją stężenia tego białka wzrastały dwukrotnie zarówno w grupie urodzonych o czasie (261µg/l), jak i u wcześniaków (79µg/l). Podwyższone stężenia elastazy i alfa-1-antytrypsyny stwierdzono w osoczu krwi 60% dzieci urodzonych przedwcześnie z podejrzeniem infekcji w pierwszym dniu życia, a w 86% w drugim dniu po urodzeniu. W tym czasie stężenie CRP było prawidłowe i wzrastało dopiero w następnych dniach

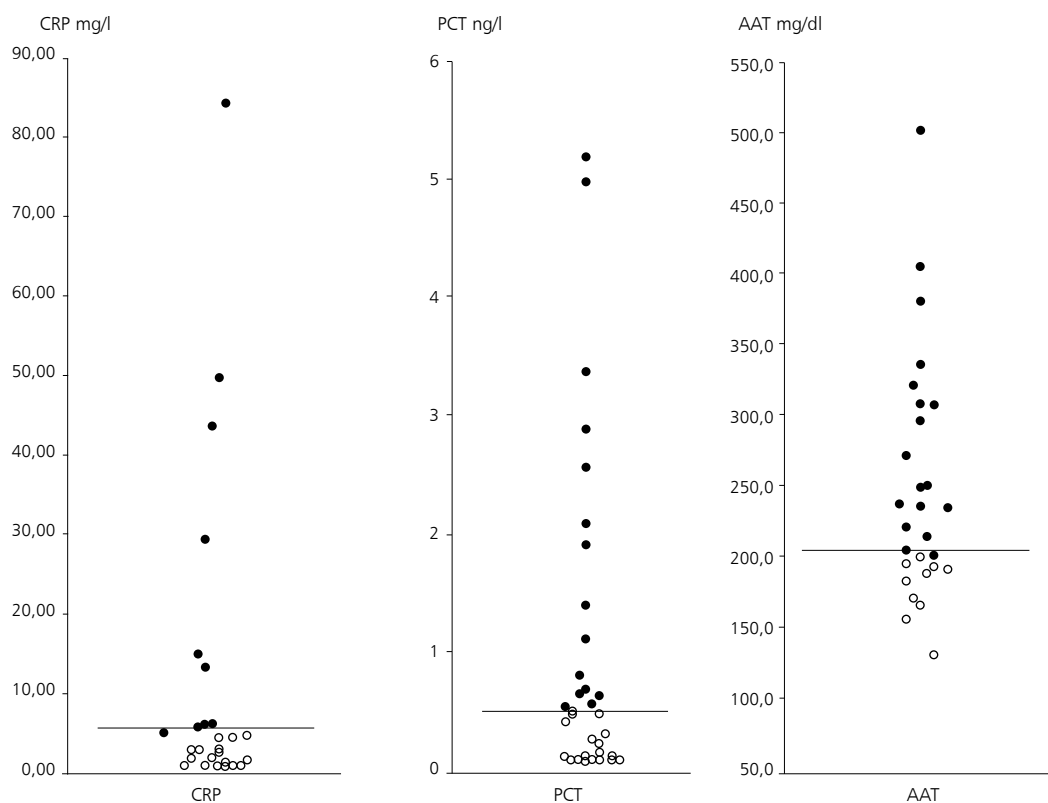


Rys. 1. Stężenie elastazy i alfa-1-antytrypsyny(AAT) w osoczu w pierwszych 5 dniach infekcji u noworodków urodzonych przedwcześnie, przy prawidłowych stężeniach CRP.

infekcji (12, rys.1). W diagnozowaniu zakażeń okresu noworodkowego dyskutowana jest ostatnio przydatność oznaczeń prokalcytoniny. W stanach infekcyjnych stężenie tego białka w surowicy wzrasta nawet do

1000ng/ml przy wartościach prawidłowych 0,5ng/ml. Z badań niektórych autorów wynika, że w krwi pępowinowej wcześniaków podwyższone stężenie prokalcytoniny jest wczesnym i czułym wskaźnikiem (potwierdzonej następnie w trzeciej dobie życia) posocznicy (14). W badaniach Enquixa (14) stężenie tego białka większe niż 8ng/ml charakteryzowało wszystkie badane przez autora noworodki z sepsą. W naszych badaniach (15) podwyższone wartości prokalcytoniny występowały u 46% noworodków z podejrzeniem infekcji, natomiast alfa-1-antytrypsyna była podwyższona u 49%, a CRP u 24% (rys.2 i 3).

Dane literaturowe wskazują, że na stężenie prokalcytoniny, podobnie jak i innych białek ostrofazowych, wpływ mają komplikacje okołoporodowe zarówno u matki, jak i u płodu, a wartość diagnostyczna ozna-



Rys. 2. Stężenie CRP, PCT i AAT u noworodków z podejrzeniem zakażenia; poziome linie na wykresach wyznaczają górną granicę wartości prawidłowych.

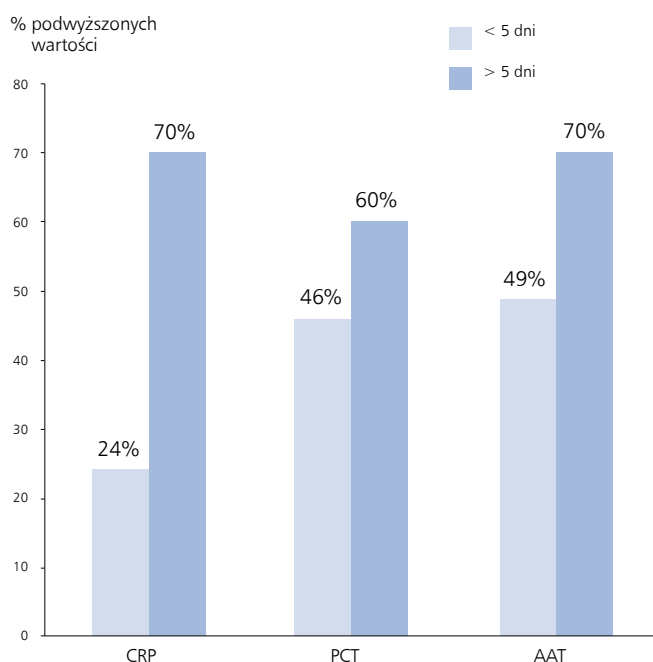
czeń tego białka wzrasta dopiero w trzecim dniu życia. Dyskutowana jest ostatnio możliwość różnicowania zakażeń bakteryjnych i wirusowych poprzez analizę stężeń prokalcytoniny w surowicy krwi. Hatherill i wsp. (16) obserwowali u niemowląt wysokie stężenia tego białka (2,9ng/ml) przy infekcji bakteryjnej, niskie zaś (0,8ng/ml) przy wirusowej. Dane dotyczące noworodków są fragmentaryczne i kontrowersyjne, wymagają zatem dalszych systematycznych badań.

Powszechnie akceptowana jest natomiast przydatność oznaczeń CRP w monitorowaniu przebiegu infekcji oraz dla oceny skuteczności leczenia. Badania wielu autorów sugerują, że utrzymujący się podwyższony poziom CRP w 48 godzin po urodzeniu jest wskaźnikiem potwierdzającym podejrzenie infekcji, szczególnie u dzieci z grupy podwyższonego ryzyka.

Wskazuje też na celowość wczesnego rozpoczęcia terapii antybiotykami.

Z badań Philipa i Millsa (17), przeprowadzonych na grupie około 500 noworodków z podejrzeniem infekcji ($\text{CRP} > 10\text{mg/l}$), u których zastosowano antybiotyki w czasie 12 godzin po urodzeniu, wynika, że skuteczność terapii można monitorować za pomocą poziomu CRP. Dzieci, u których najwyższe stężenia nie przekraczały 30mg/l, leczone były 3 dni. Natomiast przez 4, 5, 6, 7 lub więcej dni podawano antybiotyk przy wartościach CRP odpowiednio 38mg/l, 43mg/l, 84mg/l i 137mg/l. U żadnego z dzieci nie wystąpiły nawroty choroby w ciągu miesiąca po zakończeniu leczenia.

Dużą przydatność oznaczeń CRP dla monitorowania leczenia obserwuje się również w przypadku noworodków urodzonych przedwcześnie. Bamela i wsp. (18) u dzieci z podejrzeniem posocznicy urodzonych przed 33. tygodniem ciąży wykluczali zakażenie poprzez oznaczanie CRP w seriach co kilka godzin (wartość predykcyjna 99%). Stężenia CRP utrzymujące się na poziomie 10mg/l były podstawą do zaprzestania terapii.



Rys. 3. Częstość występowania (%) podwyższonych stężeń CRP, PCT i AAT w surowicy krwi noworodków z podejrzeniem infekcji w wieku poniżej i powyżej 5 dni.

W podsumowaniu należy podkreślić, że według najnowszych poglądów potwierdzenie podejrzenia infekcji u noworodków nie może być oceniane poprzez badanie pojedynczych markerów. Zalecane jest oznaczanie stężeń mediatorów stanów zapalnych równocześnie z białkami ostrej fazy, w tym przede wszystkim CRP. W odniesieniu do tego białka największą wartość wskaźnikową ma śledzenie dynamiki zmian, a techniki o wysokiej czułości (hsCRP) powinny być metodami z wyboru.

prof. Teresa Laskowska-Klita
Zakład Biochemii i Diagnostyki Klinicznej
Instytut Matki i Dziecka w Warszawie
e-mail: biochem@imid.med.pl

Piśmiennictwo:

1. Jasińska A., Bobilewicz D., Mach U.: Białko C-reaktywne w surowicy jako laboratoryjny wskaźnik zakażenia u noworodków. *Ped. Pol.* 1996, LXXI, 595-98.
2. Jaye D.L., Waites K.B.: Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1997, 16, 735-47.
3. Chiesa C., Signore F., Assuma M. et al.: Serial measurements of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference intervals and analysis of maternal and perinatal confounders. *Clin. Chem.* 2001, 47, 1016-22.
4. Marchini G., Berggren V., Djlali-Merzoug R., Hansson L.-O.: The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus-newborn infant. *Acta Paediatr.* 2000, 89, 1082-6.
5. Chiesa C., Pellegrini G., Penaro A. et al.: C-reactive protein, interleukin-6 and procalcitonin in the immediate postnatal period: influence of illness severity, risk status, antenatal and perinatal complications and infection. *Clin. Chem.* 2003, 49, 60-8.
6. Nuntnarumit P., Pinkaew O., Kitiwanwanich S.: Predictive values of serial C-reactive protein in neonatal sepsis. *J. Med. Assoc. of Thailand* 2002, 85, 1151-8.
7. Hengst J. M.: The role of C-reactive protein in the evaluation and management of infants with suspected sepsis. *Advances in Neonatal Care* 2003, 3, 3-13.
8. Krueger M., Nauck M. S., Heutschel R. et al.: Cord blood levels of interleukin-6 and interleukin-8 for the immediate diagnosis of early-onset infection in premature infants. *Biology of the Neonate* 2001, 80, 118-23.
9. Dollner H., Vatten L., Linnebo I. et al.: Inflammatory mediators in umbilical plasma from neonates who develop early-onset sepsis. *Biology of Neonate* 2001, 80, 41-7.
10. Santana Reyes C., Garcia-Munoz F., Reyes D. et al.: Role of cytokines (interleukin-1-beta, 6, 8, tumor necrosis factor-alpha, and soluble receptor of interleukin-2) and C-reactive protein in the diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr.* 2003, 92, 221-27.
11. Romagnoli C., Frezza S., Cingolani A. et al.: Plasma levels of interleukin-6 and interleukin-10 in preterm neonates evaluated for sepsis. *Europ. J. Pediatrics* 2001, 160, 345-50.
12. Szymczak E., Laskowska-Klita T., Helwich E. i wsp.: Ocena przydatności oznaczania białek ostrej fazy we wczesnym rozpoznawaniu zakażeń bakteryjnych u noworodków urodzonych przedwcześnie. *Ped. Pol.* 2000, LXXV, 1, 63-9.
13. Laskowska-Klita T., Czerwińska B., Maj-Pucek M.: Elastaza neutrofilowa krwi pępowinowej w diagnostyce zakażeń noworodków urodzonych o czasie i urodzonych przedwcześnie. *Med. Wieku Rozw.* 2002, VI, 13-21.
14. Enquix A., Concha A., Medine A. et al.: Comparison of procalcitonin with C-reactive protein and serum amyloid for the early diagnosis of bacterial sepsis in critically ill neonates and children. *Intensive Care Med.* 2001, 27, 211-5.
15. Laskowska-Klita T., Czerwińska B.: Badania stężenia białka C-reaktywnego prokalcytoniny i alfa-1-antytrypsyny jako markerów stanu zapalnego. *Med. Wieku Rozw.* 2002, VI, 5-11.
16. Hatherill M., Tibby S. M., Sykes K. et al.: Diagnostic markers of infection: comparison of procalcitonin with C-reactive protein and leukocyte count. *Arch. Dis. in Childhood* 1999, 81, 417-21.
17. Philip A. G., Mills P. C.: Use of C-reactive protein in minimizing antibiotic exposure: experience with infants initially admitted to a well-baby nursery. *Pediatrics* 2000, 106, E4.
18. Bamela H. N., Ballot D. E., Cory B. L., Cooper P.: Use of C-reactive protein to guide duration of empiric antibiotic therapy in suspected early neonatal sepsis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2000, 19, 531-5.

WSKAŹNIKI ZAPALENIA W DIAGNOSTYCE LABORATORYJNEJ CHORÓB UKŁADU KOSTNO-STAWOWEGO

INFLAMMATORY MARKERS IN LABORATORY DIAGNOSIS OF OSTEOARTHRITIS

Grażyna Odrowąż-Sypniewska

Streszczenie

Diagnostyka choroby zwyrodnieniowej stawów (chzs) opiera się głównie na badaniu radiologicznym wykazującym zaawansowane zmiany. Wobec braku wyraźnej odpowiedzi zapalnej w chzs obecność białek ostrej fazy rzadko była przedmiotem badań. Diagnostyka reumatoidalnego zapalenia stawów (rzs) obejmuje objawy kliniczne, obraz radiologiczny i badania immunologiczne. Istotną rolę w patogenezie rzs odgrywają cytokiny. Odpowiedź ostrej fazy to produkcja interleukin, a następnie synteza białek ostrej fazy: białka C-reaktywnego (CRP) i surowiczego amyloidu A (SAA), które są pośrednimi wskaźnikami aktywności choroby.

W podstawowej diagnostyce laboratoryjnej chzs i rzs wykorzystuje się badania morfologii krwi, OB, CRP, badania biochemiczne i moczu oraz płynu stawowego, rzadziej stężenie cytokin i produktów rozpadu chrząstki uwalnianych do jamy stawowej.

W rzs obserwuje się dodatnią korelację między stężeniem produktów degradacji chrząstki a stężeniem CRP i interleukiny 6 oraz CRP i OB. W rzs stężenia CRP $<50\text{mg/l}$ odpowiadają lżejszym postaciom, natomiast $>100\text{mg/l}$ postaciom cięższym. Badanie CRP przy podejrzeniu posoczniczego zapalenia stawów u dzieci cechuje się dobrą czułością i swoistością oraz wysoką ujemną wartością predykcyjną. Podwyższone stężenie CRP stanowi istotny czynnik determinujący ubytek kości i chrząstki u kobiet po menopauzie z objawami rzs i osteoporozy. Jedynie u pacjentów z rzs, ale nie z chzs lub zapaleniem kostno-stawowym, wykazano zależność między wysokim CRP a występowaniem nadciśnienia, wrażliwością na insulinę oraz obniżonym stężeniem cholesterolu HDL.

Białko C-reaktywne nie jest parametrem swoistym, ale wysoce czułym, a przez to bardzo użytecznym w diagnostyce laboratoryjnej chorób reumatycznych. Podwyższone stężenie CRP ma większą wartość diagnostyczną niż wartość OB lub leukocytozy, a prostota jego oznaczania decyduje o przewadze nad badaniem interleukin w diagnostyce rutynowej. Wszelkie zmiany nasilenia procesu zapalnego mają szybkie odniesienie do wartości CRP, dlatego CRP może być wykorzystane do śledzenia progresji zmian radiologicznych we wczesnej fazie rzs, degradacji chrząstki w chzs i jako wskaźnik prognostyczny oraz do monitorowania efektywności leczenia.

Słowa kluczowe

choroba zwyrodnieniowa stawów (chzs), reumatoidalne zapalenie stawów (rzs), różnicowanie, wartość diagnostyczna CRP

Summary

At present, osteoarthritis is diagnosed by measuring joint space width on radiographs, which is possible when a significant damage within the joint has already occurred. The inflammatory component in osteoarthritis (OA) is of minor importance comparing with rheumatoid arthritis (RA). Assessing clinical status in RA includes radiographic scores, measures of functional status and disease activity and immunological tests. Inflammatory cytokines play an important role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Synthesis of acute phase proteins in the liver in response to proinflammatory interleukins is characteristic for RA.

Routine laboratory testing in osteoarthritis includes hematology, classical humoral inflammatory parameters: erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein, blood chemistry, infectious serology, urinalysis and synovial fluid analysis. Measurement of cytokines and cartilage breakdown products in serum or synovial fluid are performed only in specialized laboratories.

Recent data have shown positive relationship between the levels of cartilage degradation products and CRP or interleukin-6, and CRP and ESR in patients with RA. CRP level is used for discrimination between mild (CRP $<50\text{mg/l}$) and advanced active form (CRP $>100\text{mg/l}$) of RA. In comparison with ESR, C-reactive protein was shown to be a better negative predictor of septic arthritis in children. Increased CRP level constitutes an important factor determining the loss of subchondral bone and cartilage in postmenopausal women with RA and osteoporosis. Interestingly, among patients with different arthropathies only in RA patients the association between high CRP values and hypertension, insulin sensitivity and decreased HDL-cholesterol was shown.

C-reactive protein is not a specific parameter but highly sensitive and very useful in laboratory diagnosis of osteoarthritis. Increased CRP level has a greater clinical utility than ESR or leukocyte count. CRP assay, comparing with interleukin measurement, is easy to perform in routine laboratory. As an early marker of acute phase response C-reactive protein may be useful in monitoring progression of radiographic changes in early RA and cartilage degradation in OA, as a prognostic factor and in monitoring the treatment.

Keywords

osteoarthritis (OA), rheumatoid arthritis (RA), comparison, diagnostic utility.

Choroba zwyrodnieniowa stawów - osteoartroza (chzs), uznawana za chorobę cywilizacyjną, należy do grupy chorób reumatycznych i cechuje się uszkodzeniem struktur stawowych polegającym na ubytku chrząstki stawowej, który jest spowodowany zachwianiem równowagi pomiędzy jej degradacją i regeneracją.

Diagnostyka chzs opiera się przede wszystkim na badaniu radiologicznym, które wykazuje dopiero zaawansowane zmiany zwyrodnieniowe, nie dając odpowiedzi na pytanie, czy choroba jest w fazie aktywnej, ani nie będąc wskaźnikiem prognostycznym. Etiopatogeneza tzw. osteoartrozy idiopatycznej wiąże się z zaburzeniem metabolizmu chondrocytów nie mającym wyraźnego podłoża zapalnego. Wobec braku układowej odpowiedzi zapalnej obecność białek ostrej fazy, w tym białka C-reaktywnego, dość rzadko była przedmiotem badań.

W przeciwieństwie do chzs reumatoidalne zapalenie stawów (rzs), będące również chorobą z grupy reumatycznych, charakteryzuje się przewlekłym i postępującym stanem zapalnym oraz powolną destrukcją struktur stawowych, co prowadzi do pogłębiającej się z czasem niesprawności ruchowej i przyspiesza zgon.

Reumatoidalne zapalenie stawów, którego częstość występowania w krajach Europy Zachodniej określa się na 1-2% populacji, występuje trzykrotnie

częściej u kobiet niż u mężczyzn. Jest chorobą o podłożu autoimmunizacyjnym i dotyczy przede wszystkim (w 85%) stawu kolanowego, w mniejszym stopniu stawów rąk i stóp. Rozpoznanie stawia się głównie na podstawie objawów klinicznych, takich jak: bóle stawowe, opuchnięcia, poranne sztywnienie i ograniczenie ruchu, oraz na podstawie obrazu radiologicznego i wyników badań immunologicznych (1).

W rzs tkanką atakowaną przez układ immunologiczny jako „obcy antygen” jest błona maziowa oraz, jak wykazują nowsze doniesienia, chrząstka stawowa, a przeciwciała skierowane są przeciw kolagenowi typu II, charakterystycznemu dla chrząstki (2) lub osteopontynie (3). Makrofagi pochłaniają fragmenty antygeny i prezentują limfocytom T. Aktywowane limfocyty T produkują cytokiny, mediatory zapalenia. Coraz więcej danych przemawia za tym, iż istotną rolę w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów odgrywa nowo odkryty układ cytokin należących do nadrodziny czynnika martwicy nowotworów (TNF-alfa), RANK-RANKL-osteoprotegeryna (4). Pierwszy etap odpowiedzi ostrej fazy obejmuje produkcję interleukiny-1 (IL-1), TNF-alfa, IL-6 i IL-8 oraz niedawno odkrytej cytokiny IL-17, której wzrost stężenia stwierdzono w maziówce i płynie stawowym (5). Późniejszy etap to zwiększona pod wpływem

cytokin synteza białek ostrej fazy (białko C-reaktywne CRP i surowiczy amyloid A-SAA), których wzrost stężenia można traktować jako pośredni wskaźnik aktywności choroby. Trzecim, nieswoistym markerem zapalenia jest klasyczny wskaźnik stanów zapalnych, czyli szybkość opadania krwinek - OB. Okazuje się, że podobny ciąg zdarzeń ma również miejsce w idiopatycznej formie chzs, ale stężenia białek ostrej fazy są w tym przypadku zdecydowanie niższe.

Ocena i monitorowanie stanu klinicznego pacjentów z chzs i rzs oparte są na wynikach szeregu różnych badań, w tym laboratoryjnych, radiologicznych, a także na ocenie stanu czynnościowego zaatakowanych narządów (6). Przede wszystkim wykorzystuje się podstawowe, wykonywane rutynowo badania morfologii krwi, OB i stężenia CRP. Rzadziej oznacza się poziom prozapalnych cytokin. Wykonuje się oznaczenia kreatyniny i kwasu moczowego jako wskaźników wydolności nerek, aktywności transaminaz w celu oceny funkcji wątroby i kinazy kreatynowej jako wskaźników uszkodzenia miocytów w przebiegu współistniejącego zapalenia mięśni. Ocena funkcji wątroby i nerek jest niezbędna, gdyż wiele leków antyreumatycznych ma działanie nefro- i hepatotoksyczne. Podczas monitorowania leczenia oznacza się też stężenie salicylanów.

Diagnostyka obejmuje ponadto badanie moczu ze zbiórki dobowej celem oznaczenia liczby erytrocytów, leukocytów i stężenia białka oraz badanie płynu stawowego dla oznaczenia leukocytów i stwierdzenia obecności kryształów kwasu moczowego lub fosforanu wapnia. W płynie stawowym określa się również obecność flory bakteryjnej i dokonuje jej identyfikacji

Celem badań laboratoryjnych jest wykluczenie czynników, które wtórnie mogą prowadzić do chzs (np. dna, cukrzyca, zaburzenia hormonalne), a także różnicowania pomiędzy ostrym stanem zapalnym stanowiącym podłoże choroby a zmianami zapalnymi o niewielkim nasileniu.

Choroba zwyrodnieniowa stawów zazwyczaj jest rozpoznawana późno, dopiero wówczas, gdy zmiany chorobowe powodują pogorszenie sprawności ruchowej, czemu towarzyszy dotkliwy ból. Dlatego poszukuje się parametrów laboratoryjnych umożliwiających postawienie rozpoznania przy obecności niewielkich objawów klinicznych. Obok wspomnianego już CRP (w tym przypadku lepiej stosować metodę o wysokiej czułości) i OB zwraca się uwagę również na rolę cytokin, oznaczanych w surowicy lub płynie stawowym, oraz swoistych produktów rozpadu chrząstki, białek uwalnianych do jamy stawowej (7).

W badaniach własnych przeprowadzonych u kobiet z chorobą zwyrodnieniową stawów wykazano, że przyspieszenie OB, w przeciwieństwie do podwyższonej wartości CRP, nie zawsze odzwierciedla obecność procesu zapalnego w stawie i nasilony rozpad chrząstki. Natomiast u chorych z reumatoidalnym zapaleniem stawów zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem produktów degradacji chrząstki a stężeniem CRP oraz interleukiny-6 (IL-6). Ponadto w grupie chorych z rzs (ale nie z chzs) wykazano wysoką korelację pomiędzy stężeniem CRP a wartością OB: $r=0,94$; $p<0,005$ (8).

W rzs bardzo istotne jest stwierdzenie, czy choroba ma przebieg łagodny, czy jest to szybko postępujący, aktywny proces. W tym celu oznacza się CRP i odczyn

opadania krwinek oraz wskaźniki serologiczne: czynnik reumatoidalny w klasie IgM, odczyn ASO oraz występowanie różnego rodzaju przeciwciał, np. antykeratynowych czy swoistych przeciwciał antyCCP (przeciw cyklicznemu peptydowi cytrulinowanemu).

Zwiększenie wartości CRP jest bardziej czułym wskaźnikiem niż wartość OB czy leukocytoza. W reumatoidalnym zapaleniu stawów stężenia CRP $<50\text{mg/l}$ odpowiadają lżejszym postaciom, natomiast $>100\text{mg/l}$ - postaciom cięższym. Kryteria podziału mogą być nawet bardziej zaostrzone z wartością odcięcia przy 28mg/l i wówczas stężenie CRP powyżej lub równe 28mg/l świadczy o występowaniu aktywnej postaci rzs (9). Bardzo przydatne jest monitorowanie skuteczności leczenia poprzez kolejne oznaczenia CRP.

Wartość diagnostyczna oznaczania OB, zwanego „kopciuszkiem” wśród testów laboratoryjnych, jest dobrze udokumentowana w chorobach reumatycznych. W rzs wartość OB koreluje z liczbą zmienionych stawów, będąc także markerem aktywności choroby. We wczesnej fazie rzs OB może być wskaźnikiem predykcyjnym uszkodzenia stawów. OB nie jest testem ani swoistym, ani wystarczająco czułym i w przeciwieństwie do CRP nie odzwierciedla tempa zachodzących zmian.

Wykazano kliniczną użyteczność oznaczania CRP przy podejrzeniu posoczniczego zapalenia stawów w grupie dzieci, u których materiał do badania pobierano przed upływem doby od pojawienia się objawów klinicznych (10). W porównaniu z OB białko C-reaktywne cechowało się dobrą czułością i swoistością oraz wysoką ujemną wartością predykcyjną. Prawdopodobieństwo wykluczenia choroby

przy stężeniu CRP $<10\text{mg/l}$ wynosiło 87%.

Punzi i wsp. (11) badali stężenia interleukin prozapalnych w płynie stawowym u pacjentów z rzs wieku młodzieńczego oraz u osób starszych i porównywali je z wartościami CRP i odczynem opadania krwinek. Stwierdzili wyższe stężenia CRP i OB u pacjentów starszych, czemu towarzyszyły wyższe stężenia IL-6 w płynie stawowym, podczas gdy stężenia innych, jak IL-1-beta i IL-8 były podobne w obu grupach pacjentów. Autorzy wnioskują, że wysokie stężenia IL-6, a co za tym idzie wysokie stężenia białek ostrej fazy u osób starszych są przynajmniej częściowo odpowiedzialne za różnice w przebiegu choroby w obu grupach wiekowych. IL-6 może być odpowiedzialna nie tylko za większość zmian układowych, ale też za objawy miejscowe.

Trontzas i wsp. (12), oceniając zależności pomiędzy stężeniem cytokin antyzapalnych i prozapalnych w surowicy i płynie stawowym u pacjentów z chzs o różnej etiologii i odnosząc je do wartości CRP i OB., wykazali, że stężenie antyzapalnej interleukiny-11 (IL-11) było wyższe u chorych z osteoartrozą niż u chorych z reumatoidalnym zapaleniem stawów oraz u osób z rzs leczonych preparatami przeciwzapalnymi. Wyniki tych badań dowodzą ochronnej roli IL-11, występującej miejscowo w płynie stawowym u pacjentów z chzs, która polega przypuszczalnie na indukcji syntezy tkankowego inhibitora metaloproteinaz degradujących chrząstkę. Boss i wsp. (13) badali związek pomiędzy stężeniem IL-6 u pacjentów z rzs w aktywnej fazie choroby a klasycznymi parametrami, jak OB i CRP oraz dodatkowo stężeniem kortyzolu we krwi, którego wartości są podwyższone u tych chorych. Wykazali istotne korelacje

między IL-6 i CRP ($r=0,75$; $p<0,001$), IL-6 i OB ($r=0,62$; $p<0,001$) oraz słabą korelację ze stężeniem kortyzolu. Ponadto zaobserwowali wysoką korelację między OB i CRP ($r=0,80$; $p<0,001$).

W nowszych badaniach przeprowadzonych u chorych we wczesnej fazie rzs oceniano stężenie metaloproteinazy-3 (MMP-3) oraz CRP w surowicy w okresie progresji zmian stwierdzanych na radiogramach (14, 15). Obserwowano znamiennej korelację między MMP-3 i CRP w surowicy ($r=0,68$; $p<0,001$) i słabszą korelację z wartościami OB. Interesujące było, iż w okresie remisji, w którym nie stwierdzano zmian w obrazie radiologicznym, zależność między MMP-3 a CRP była statystycznie istotna ($r=0,44$; $p=0,012$), co może sugerować, że MMP-3 i CRP są ze sobą ściśle powiązane i oznaczanie CRP z powodzeniem może być wykorzystane do monitorowania progresji zmian we wczesnej aktywnej fazie rzs.

U kobiet po menopauzie z klinicznymi objawami reumatoidalnego zapalenia stawów często występuje osteoporoza. Okazuje się, że podwyższone stężenie CRP, oprócz czasu trwania choroby, stanowi bardzo ważny czynnik determinujący stopień ubytku kości i chrząstki u tych chorych (16).

Przybywa dowodów na istnienie nasilonego procesu miażdżycowego u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów w związku z występowaniem u nich układowego stanu zapalnego o charakterze przewlekłym (17). Częstość występowania chorób sercowo-naczyniowych jest wyższa u pacjentów z rzs w porównaniu do tych z chorobą zwyrodnieniową lub zapaleniem kostno-stawowym. Wykazano istotną zależność

między wysokim stężeniem CRP a występowaniem nadciśnienia, wrażliwością na insulinę oraz obniżonym stężeniem cholesterolu HDL u chorych na rzs, czego nie stwierdzono u pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów (18). Tanimoto i wsp. (19) sugerują, że zmiany frakcji lipoprotein HDL, związane z obniżeniem aktywności paraoksonazy i acylotransferazy lecytyna-cholesterol (LCAT) oraz obniżeniem stężenia apolipoprotein AI i AII, powodują zmniejszenie antyaterogennej roli HDL i mogą przynajmniej częściowo tłumaczyć wzrost liczby zgonów z powodu chorób sercowo-naczyniowych wśród chorych z reumatoidalnym zapaleniem stawów.

Białko C-reaktywne nie jest parametrem swoistym dla chorób reumatycznych, ale ze względu na wysoką czułość jest wskaźnikiem bardzo użytecznym w ich rozpoznaniu i monitorowaniu przebiegu. Podwyższone stężenie CRP ma większą wartość diagnostyczną niż wartość OB lub leukocytozy, a prostota jego oznaczania decyduje o przewadze nad oznaczaniem interleukin czy metaloproteinaz w rutynowych warunkach. Wszelkie zmiany nasilenia procesu zapalnego znajdują szybkie odzwierciedlenie w wartościach CRP, dlatego też może być ono wykorzystane do śledzenia progresji zmian we wczesnej fazie rzs jako wskaźnik prognostyczny, do monitorowania skuteczności leczenia reumatoidalnego zapalenia stawów, ale także do szacowania stopnia degradacji chrząstki w chorobie zwyrodnieniowej stawów.

prof. Grażyna Odrowąż-Sypniewska
Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
Akademii Medycznej w Bydgoszczy
e-mail: kizdiagn@amb.bydgoszcz.pl

Piśmiennictwo:

1. Madhok R. et al.: Recent advances in rheumatology. Br. Med. J. 2000, 321, 882-85.
2. Tsuji M. et al.: The possible role of C-fos expression in rheumatoid joint destruction. Mod Rheumatol 2001, 11, 17-22.
3. Sakata M. et al.: Autoantibodies to osteopontin in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 2001, 28, 1492-95.
4. Aubin J. et al.: Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption. Medscape Women Health 2000, 5, 1-9.
5. Chaband M. et al.: Human interleukin-17 - a T-cell derived proinflammatory cytokine produced by the rheumatoid synovium. Arthritis Rheum. 1999, 42, 963-70.
6. Pincus T. et al.: Quantitative measures for assessing rheumatoid arthritis in clinical trials and clinical care. Best Pract. Res. Clin. Rheumatol. 2003, 17, 753-81.
7. Odrowąż-Sypniewska G.: Biochemical markers of cartilage and bone turnover in osteoarthritis. Ann. Acad. Med. Bydgost. 2003, 17, 61-5.
8. Sypniewska G. et al.: Comparison of serum and synovial markers of inflammation in patients with arthropathies. Clin. Chem. 2002, 48, S6, A146.
9. Kaufmann J. et al.: Hydroxypyridinium collagen crosslinks in serum, urine, synovial fluid and synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis compared with osteoarthritis. Rheumatology 2003, 42, 314-20.
10. Levine M. J. et al.: Assessment of the test characteristics of C-reactive protein for septic arthritis in children. J. Pediatr. Orthop. 2003, 23, 373-7.
11. Punzi L. et al.: Synovial fluid levels of proinflammatory interleukins and their inter-relationships in elderly vs. younger onset rheumatoid arthritis. Aging 1996, 8, 277.
12. Trontzas et al.: Comparative study of serum and synovial fluid interleukin-11 levels in patients with various arthritides. Clin. Biochem. 1998, 31, 673.
13. Boss B. et al.: Correlation of IL-6 with the classical humoral disease activity parameters ESR and CRP and with serum cortisol, reflecting the activity of the HPA axis in active rheumatoid arthritis. Z. Rheumatol. 2000, 59, Suppl 2, 62.
14. Posthumus M. D. et al.: Serum matrix metalloproteinase-3 in comparison to C-reactive protein in periods with and without progression of radiological damage in patients with early rheumatoid arthritis. Clin. Exp. Rheumatol. 2003, 21, 465-72.
15. Cunnane G. et al.: Early joint erosions and serum levels of MMP-1, MMP-3 and TIMP-1 in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2001, 44, 2263-74.
16. Forsblad D'Elia H. et al.: Radiographic joint destruction in postmenopausal rheumatoid arthritis is strongly associated with generalized osteoporosis. Ann. Rheum. Dis. 2003, 62, 617-23.
17. Bacon P. A. et al.: Accelerated atherogenesis in autoimmune rheumatic diseases. Autoimmun. Rev. 2002, 1, 338-47.
18. Dessein P. H. et al.: Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis versus osteoarthritis. Arthritis Res. 2002, 4, R5.
19. Tanimoto N. et al.: Serum paraoxonase activity decreases in rheumatoid arthritis. Life Sci. 2003, 72, 2877-85.

OCENA ANALIZATORA HEMATOLOGICZNEGO ABX MICROS CRP

PERFORMANCE EVALUATION OF THE ABX MICROS CRP HEMATOLOGICAL ANALYZER

Monika Maciuk-Janik, Beata Wojtysiak-Duma, Dariusz Duma

Streszczenie

ABX Micros CRP jest pierwszym na polskim rynku analizatorem pozwalającym na jednoczesne wykonanie z jednej próbki krwi pełnej 18-parametrowej morfologii krwi obwodowej i oznaczenie stężenia białka C-reaktywnego. Dla oznaczeń CRP zastosowano metodę immunoturbidymetryczną z lateksem z odczytem przy długości fali świetlnej 850nm.

Celem pracy była ocena wiarygodności oznaczeń wykonywanych na analizatorze ABX Micros CRP. Oceniono dokładność i precyzję oznaczeń morfologii krwi i CRP, jak też porównano uzyskane wyniki z oznaczeniami morfologii krwi na analizatorze Cell-Dyn 1700 (Abbott) oraz oznaczeniami CRP wykonanymi na analizatorze Hitachi 902 z zastosowaniem odczynników TQ CRP firmy Roche Diagnostics.

Wyniki przeprowadzonej oceny pozwalają stwierdzić, iż analizator hematologiczny Micros CRP firmy ABX Diagnostics charakteryzuje się wysoką jakością wykonania, poprawnością rozwiązań ergonomicznych, wysoką wiarygodnością, jak też porównywalnością uzyskiwanych wyników.

Słowa kluczowe

analizator Micros CRP, ocena, przydatność diagnostyczna, wiarygodność wyników.

Summary

ABX Micros CRP is the first instrument which provides both a complete blood count (CBC) with 3-part differential of white blood cells (WBC) and a quantitative assay of C-reactive protein (CRP). The CRP measurement is based on whole-blood latex immunoturbidimetric assay. Performance evaluation of the new instrument from ABX Diagnostics involved the assessment of diagnostic usefulness and analytical performance of CBC and CRP measurement (accuracy and precision). The routine blood cell parameters were compared with Cell-Dyn 1700 hematological analyzer (Abbott). CRP measurements were correlated with Roche TQ CRP assays (Hitachi 902 analyzer).

The evaluation studies led to the conclusion that the ABX Micros CRP provides accurate and reliable results of both hematological and CRP measurements.

Keywords

ABX Micros CRP analyzer, performance evaluation, diagnostic usefulness, accuracy.

Jednym z najnowszych trendów w medycynie laboratoryjnej jest połączenie badań tradycyjnie zaliczanych do dwóch różnych działów diagnostyki: hematologii i biochemii. Aparatem łączącym funkcje analizatora hematologicznego i biochemicznego jest Micros CRP firmy ABX, który oprócz oznaczenia 18-parametrowej morfologii krwi umożliwia oznaczenie stężenia białka C-reaktywnego we krwi pełnej.

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności aparatu Micros CRP do oznaczeń w rutynowym laboratorium diagnostycznym.

OPIS APARATU

Zakres pomiarowy i zasada działania

Micros CRP jest automatycznym analizatorem hematologicznym, który umożliwia oznaczenie 18 parametrów, oceniających układ krwinek białych, erytrocytów i płytek krwi oraz dodatkowo pozwala na jednoczesny pomiar z tej samej próbki stężenia białka

C-reaktywnego (CRP). Ponadto analiza pomiarów konduktometrycznych pozwala na konstrukcję wykresów

rozkładu wielkości krwinek białych (histogramu) oraz wykreślenie krzywych rozkładu objętości erytrocytów i płytek krwi.

Oznaczenia wykonywane są z krwi pełnej (minimalna objętość próbki - 500 μ l, objętość aspirowana: 10 μ l w trybie CBC, 18 μ l w trybie CBC+CRP), pobieranej z odkorkowanych probówek umieszczanych w zamkniętym podajniku próbek, chroniącym operatora przed kontaktem z badanym materiałem. Aparat ma możliwość pracy jedynie w trybie ręcznego podawania próbek. Nie przewidziano niestety możliwości stosowania zakorkowanych probówek.

Zliczanie i pomiar objętości krwinek czerwonych, białych i płytkowych dokonywany jest konduktometrycznie w dwóch komorach pomiarowych. W tej metodzie komórki krwi, zawieszone w roztworze o wysokim przewodnictwie, przechodząc przez szczelinę znajdującą się pomiędzy dwiema elektrodami, powodują zmiany impedancji zależne od ilości i objętości krwinek.

Przy pomiarach krwinek białych stosowany jest odczynnik lizujący erytrocyty oraz odczynnik obkurczający błonę komórkową krwinek białych na ich jądrze, zliczane są więc jądra. Pozwala to ustalić pewien próg detekcji eliminujący artefakty. W odniesieniu do krwi-

nek białych metoda impedancyjna stanowi podstawę określenia 3-częściowego wzoru odsetkowego, tzw. metody 3-Diff.

Stężenie hemoglobiny oznaczane jest fotometrycznie po hemolizie erytrocytów z zastosowaniem metody cyjanomethemoglobinowej.

Stężenie białka C-reaktywnego oznaczane jest we krwi pełnej metodą immunoturbidymetryczną z lateksem przy długości fali świetlnej 850nm. Wynik pomiaru (w mg/dl) jest korygowany dla wartości hematokrytu.

Sposób programowania pracy aparatu

Programowanie pracy aparatu umożliwiają 3 przyciski znajdujące się na przednim panelu i klawiatura znajdująca się pod klapką ochronną w górnej części aparatu. Informacje o funkcjach analizatora i uzyskane wyniki wyświetlane są na 7-częściowym wyświetlaczu ciekłokrystalicznym.

Podstawowe badanie krwi następuje po wprowadzeniu numeru identyfikacyjnego próbki i wyborze właściwego trybu badania (tryb kontrolny, tryb CBC, tryb CBC+CRP). Program sterujący pracą analizatora zapewnia automatyczne przeprowadzanie szeregu czynności kontrolnych oraz identyfikację i sygnalizowanie błędów analitycznych i technicznych.

Tabela I. Wykorzystanie analizatora Micros CRP.

PARAMETRY HEMATOLOGICZNE OZNACZANE PRZY UŻYCIU ANALIZATORA MICROS CRP		
● liczba krwinek czerwonych (RBC) ● stężenie hemoglobiny (HGB) ● wartość hematokrytu (HCT) ● średnia objętość krwinki czerwonej (MCV) ● średnia zawartość hemoglobiny w krwince (MCH) ● średnie stężenie hemoglobiny w krwince (MCHC) ● wskaźnik rozkładu wielkości krwinek czerwonych (RDW)	● liczba krwinek białych (WBC) ● liczba (#LYM) i odsetek (%LYM) limfocytów ● liczba (#MON) i odsetek (%MON) monocytów ● liczba (#GRA) i odsetek (%GRA) granulocytów	● liczba krwinek płytkowych (PLT) ● wartość hematokrytu płytkowego (PCT) ● wskaźnik rozkładu wielkości płytek krwi (PDW) ● średnia objętość trombocyta (MPV)

Tabela II. Zakresy pomiarowe parametrów (deklarowane).

DEKLAROWANE ZAKRESY POMIAROWE PARAMETRÓW MIERZONYCH	
● WBC: od 0,5 do 80 x 10³/μl ● RBC: od 0,2 do 7,5 x 10⁶/μl ● HGB: od 2,5 do 23,0 g/dl	● HCT: od 11,6 do 62,4 % ● PLT: od 10 do 1000 x 10³/μl ● CRP: od 0,2 do 7 mg/dl

Sposób rejestracji wyników

Aparat wyświetla wyniki w wybranym formacie na 7-częściowym wyświetlaczu ciekłokrystalicznym lub przekazuje do urządzeń zewnętrznych: drukarki lub centralnego komputera laboratoryjnego. Analizator wyposażony jest w program interpretacyjny, umożliwiający kwalifikowanie uzyskanych wyników oraz znakowanie (flagowanie) odbiegających od ustalonych wartości prawidłowych. Analizator ma standardowe wyjście umożliwiające połączenie sieciowe z komputerem laboratoryjnym (RS 232C).

ZAKRES OCENY

W ramach badania przydatności diagnostycznej automatu hematologicznego Micros CRP firmy ABX poddano ocenie następujące parametry eksploatacyjne aparatu:

1. funkcjonalność, ergonomię i stopień trudności obsługi
2. stopień uzależnienia od producenta
3. parametry eksploatacyjne
4. wiarygodność wyników oznaczeń.

Zakres oceny wiarygodności wyników oznaczeń obejmował zarówno wyniki oznaczeń parametrów hematologicznych, jak też oznaczenia stężenia białka C-reaktywnego.

Oceniono:

1. dokładność
2. precyzję: powtarzalność i odtwarzalność
3. porównywalność.

Funkcjonalność, ergonomia, stopień trudności obsługi

Obsługa aparatu łącznie z wykonywaniem oznaczeń i korzystaniem z dostępnych funkcji pomocniczych jest prosta, wymaga jedynie wstępnego przeszkolenia i dokładnego zaznajomienia się z instrukcją. Zastosowane w aparacie rozwiązania ergonomiczne są poprawne. Sposób posługiwania się przyciskami funkcyjnymi jest czytelny, a dostęp do podajnika próbek łatwy.

Automatyczne przepłukiwanie końcówki zasysającej zmniejsza zagrożenie kontaktem z materiałem biologicznym, a także ogranicza możliwość kontaminacji kolejnych próbek.

Stopień uzależnienia od producenta

Zgodnie z instrukcją obsługi prawidłowe funkcjonowanie analizatora uwarunkowane jest stosowaniem wyłącznie firmowych odczynników i materiałów zużywalnych, do których należą:

1. ABX Minidil LMG - rozcieńczalnik izotoniczny
2. ABX Alphalyse - odczynnik hemolizujący
3. ABX Miniclear - detergent do przemywania kanałów pomiarowych
4. ABX Minoclar - roztwór czyszczący
5. Zestaw odczynników do oznaczania stężenia CRP
 - a. ABX CRP-R1 - roztwór hemolizujący
 - b. ABX CRP-R2 - roztwór buforowy
 - c. ABX CRP-R3 - odczynnik CRP Latex
6. Materiały kontrolno-kalibracyjne

Parametry eksploatacyjne

Sprawność eksploatacyjna analizatora jest wysoka. Po sprawdzeniu objętości odczynników, połączeń przewodów przepływowych i zbiornika odpadów, włączenie aparatu uruchamia proces autokontroli, który obejmuje m.in. kontrolę czystości komór pomiarowych, temperatury odczynników oraz kontrolę tła. Tylko pozytywny wynik autokontroli uruchamia opcję „gotowy” („Ready”) i umożliwia wykonanie oznaczeń. Dłuższe niewykorzystywanie oznaczeń powoduje samoczynne przejście aparatu w tryb oczekiwania („Sleep state”). Rozpoczęcie cyklu analitycznego poprzedza wybór trybu pracy (CBC, CBC+CRP lub tryb kontrolny). Kolejną czynnością jest wprowadzenie numeru próbki. Po zamknięciu drzwiczek podajnika próbek krew zasysana jest automatycznie z odkorkowanej probówki znajdującej się w podajniku. Deklarowany czas wykonania jednego pełnego oznaczenia wynosi:

- 75 sek. w trybie CBC,
- 4 min. 20 sek. w trybie CBC+CRP od momentu zaaspirowania próbki.

Przy sprawnej obsłudze manualnej wydajność analizatora Micros CRP pozwala na wykonanie 48 analiz hematologicznych na godzinę w trybie CBC i 13 analiz w trybie CBC+CRP.

Ocena dokładności wyników oznaczeń hematologicznych

Ocenę dokładności oparto na badaniach krwi kontrolnej MINOTROL 16 Normal firmy ABX, porównując wartości uzyskane (średnia z 10 oznaczeń) z nominalnymi i obliczając błąd względny dokładności.

Ocena dokładności przeprowadzona z użyciem metrykowanego materiału kontrolnego wykazała wysoką zgodność uzyskiwanych wyników z wartościami referencyjnymi deklarowanymi dla analizatora Micros CRP.

Tabela III. Ocena dokładności wskaźników morfologii krwi oznaczonych na analizatorze Micros CRP dla krwi kontrolnej o wartościach prawidłowych.

SKŁADNIK	WARTOŚCI OZNACZONE				WARTOŚCI DEKLAROWANE			RÓŻNICA %
	Średnia	SD	Min	Max	Średnia	od	do	
WBC	7,34	0,04	7,26	7,41	7,5	6,7	8,3	-2,13
RBC	4,69	0,03	4,64	4,75	4,75	4,53	4,97	-1,26
HGB	13,85	0,07	13,72	13,96	14	13,3	14,7	-1,07
HCT	36,9	0,16	36,5	37,2	37,1	34,1	40,1	-0,54
MCV	78,6	0,56	78,0	79,8	78	74	82	0,77
MCH	29,5	0,27	29,1	29,8	29,5	27	32	0
MCHC	37,5	0,59	36,8	37,9	37,8	34,3	41,3	-0,80
RDW	12,8	0,13	12,5	13,0	12,2	9,2	15,2	4,92
PLT	261	4,5	256	269	250	220	280	4,40
MPV	8,1	0,14	7,9	8,3	7,9	5,9	9,9	2,53
#LYM	2,35	0,03	2,31	2,40	2,3	1,9	2,7	2,17
%LYM	32	1,52	29,6	34,5	30,6	25,6	35,6	4,58
#MON	0,75	0,01	0,73	0,77	0,7	0,4	1	7,14
%MON	10,2	0,53	9,2	11,4	9	5	13	13,33
#GRA	4,24	0,03	4,18	4,29	4,5	3,9	5,1	-5,78
%GRA	57,8	2,32	55,6	60,8	60,4	54,4	66,4	-4,30

Tabela IV. Ocena dokładności wyników oznaczeń białka C-reaktywnego na analizatorze Micros CRP.

SKŁADNIK	WARTOŚCI OZNACZONE				WARTOŚCI DEKLAROWANE			RÓŻNICA %
	Średnia	SD	Min	Max	Średnia	od	do	
CRP	4,91	0,04	4,84	5,03	4,98	4,76	5,20	-1,41

Dobrą dokładność obserwowano w odniesieniu do oznaczeń liczby krwinek białych, erytrocytów, stężenia hemoglobiny i wskaźników czerwonych krwinek. Większe odchylenia od wartości średnich w przypadku płytek krwi i wskaźników RDW, PDW, PCT oraz subpopulacji leukocytów mieszczą się w zakresach referencyjnych deklarowanych dla krwi kontrolnej.

Ocena dokładności wyników oznaczeń białka C-reaktywnego

Ocenę dokładności wyników oznaczeń białka C-reaktywnego przeprowadzono wykonując serię 15 oznaczeń w metrykowanym materiale kontrolnym CRP Trol H firmy ABX. Uzyskane wartości średnie porównano z wartościami metrykalnymi i obliczono błąd względny dokładności.

Ocena dokładności przeprowadzona z użyciem metrykowanego materiału kontrolnego wykazała wysoką zgodność wyników uzyskiwanych z wartościami deklarowanymi dla oznaczeń białka C-reaktywnego na analizatorze Micros CRP.

Ocena precyzji wyników oznaczeń hematologicznych

Ocenę precyzji wewnątrzserijnej (powtarzalności) wyników oznaczeń hematologicznych oparto na podstawie 21 pomiarów próbki krwi pochodzącej od pacjenta.

Odtwarzalność wyników uzyskiwanych na analizatorze Micros CRP sprawdzono metodą dubletów, wykonując podwójne oznaczenia tej samej krwi kontrolnej (ABX MINOTROL 16) w kolejnych 21 dniach. Współczynniki zmienności uzyskane zarówno w serii jednoczesnej, jak też w kolejnych dniach oznaczeń, dla większości badanych parametrów nie przekroczyły 5%. Podsumowując, ocena precyzji upoważnia do stwierdzenia, iż analizator Micros CRP charakteryzuje się bardzo dobrą powtarzalnością i odtwarzalnością wyników, zwłaszcza podstawowych wskaźników hematologicznych.

Ocena precyzji wyników oznaczeń białka C-reaktywnego

Powtarzalność wyników oznaczeń stężenia białka C-reaktywnego scharakteryzowano na podstawie 21 oznaczeń próbek krwi pełnej pacjenta wykonanych w serii jednoczesnej.

Odtwarzalność wyników oznaczeń CRP uzyskiwanych na analizatorze Micros CRP sprawdzono metodą dubletów, wykonując podwójne oznaczenia tej samej próbki kontrolnej (ABX CRP Trol H) w kolejnych 21 dniach. Współczynnik zmienności uzyskany w serii jednoczesnej dla oznaczeń stężenia CRP wyniósł 3,03%, zaś dla oceny odtwarzalności 3,35%. Przeprowadzona ocena

Tabela V. Porównanie wyników uzyskanych z analizatora Micros CRP oraz z analizatora Cell-Dyn.

SKŁADNIK	MICROS CRP		CELL DYN		KORELACJA	RÓŻNICA
	Średnia	SD	Średnia	SD		
WBC	7,35	3,23	7,72	3,53	0,986	0,001
RBC	4,13	1,51	4,24	1,62	0,976	0,001
HGB	12,6	2,1	12,8	2,3	0,990	0,001
HCT	38,3	9,45	38,0	9,51	0,988	0,001
MCV	83,72	5,59	84,17	5,66	0,973	0,001
MCH	30,48	1,14	30,17	1,19	0,933	0,001
MCHC	31,92	1,01	31,58	0,99	0,897	0,001
PLT	202	36	223	42	0,975	0,001
MPV	8,85	1,38	8,99	1,33	0,871	0,001
#LYM	1,62	0,56	1,51	0,60	0,985	0,001
#MON	0,35	0,14	0,32	0,14	0,939	0,001
#GRA	6,05	2,83	6,38	2,96	0,990	0,001

Tabela VI. Ocena porównywalności wyników oznaczeń CRP (Micros CRP vs. TQ CRP Roche).

SKŁADNIK	MICROS CRP		ROCHE		KORELACJA	RÓŻNICA
	Średnia	SD	Średnia	SD		
WBC	3,52	2,71	3,81	2,89	0,996	0,001

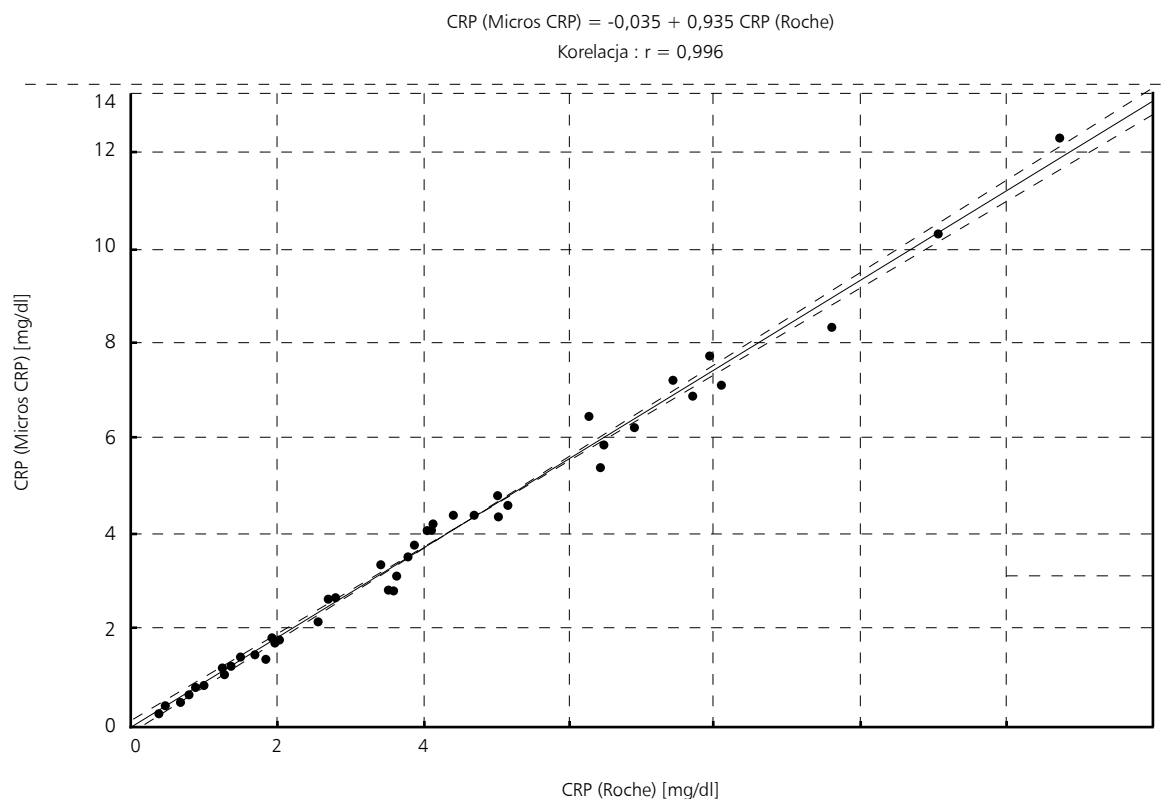
upoważnia do stwierdzenia, iż analizator Micros CRP charakteryzuje się bardzo dobrą powtarzalnością i odtwarzalnością wyników.

Ocena porównywalności

Ocenę porównywalności wyników oznaczeń parametrów hematologicznych oparto na serii 100 podwójnych oznaczeń wykonanych w próbkach krwi wersenianowej na analizatorze Micros CRP i na analizatorze Cell-Dyn 1700. Wyniki wszystkich oznaczanych parametrów uzyskane na analizatorze Micros CRP są porównywalne i wykazują wysoce znamiennej korelację z wynikami

otrzymanymi na analizatorze Cell-Dyn. Ocenę porównywalności oznaczeń CRP oparto na serii 50 oznaczeń wykonanych w próbkach krwi wersenianowej na analizatorze Micros CRP i na analizatorze Hitachi 902 przy zastosowaniu odczynników TQ CRP firmy Roche Diagnostics.

Wyniki oznaczeń stężenia białka C-reaktywnego uzyskane na analizatorze Micros CRP są porównywalne i wykazują wysoce znamiennej korelację z wynikami otrzymanymi przy użyciu odczynników firmy Roche Diagnostics na analizatorze Hitachi 902.



Rys. 1. Porównywalność wyników oznaczania stężenia białka C-reaktywnego wykonanych na analizatorze Micros CRP i na analizatorze Hitachi 902 przy użyciu odczynników TQ CRP firmy Roche Diagnostics.

Wnioski

Analizator hematologiczny Micros CRP firmy ABX Diagnostics charakteryzuje się wysoką jakością wykonania, estetycznym wyglądem i poprawnością rozwiązań ergonomicznych. Eksploatacja analizatora w warunkach pracy rutynowej oraz przeprowadzone badania oceniające pozwalają stwierdzić, iż zapewnia on wymaganą wiarygodność badań.

Artykuł przygotowany na podstawie pracy magisterskiej

Moniki Maciuk-Janik

promotor: **dr Beata Wojtysiak-Duma**

Międzywydziałowa Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej

Akademii Medycznej w Lublinie,

*pod kierunkiem **prof. Janusza Solskiego***

Zasady publikowania prac w IN VITRO EXPLORER

1. Przyjmujemy do druku prace oryginalne, dotychczas nie publikowane, o tematyce związanej z diagnostyką laboratoryjną w tym również prace dyplomowe.
2. Artykuły powinny mieć objętość nie większą niż 8 stron maszynopisu (1800 znaków na stronę).
3. Prosimy o dostarczanie prac wyłącznie w formie elektronicznej (na dyskietce lub pocztą internetową), jako dokumenty programu Microsoft Word (doc). Ilustracje, wykresy, tabele i opisy prosimy umieścić na końcu artykułu lub w osobnym pliku, a w tekście odwołać do nich.
4. Niezbędne elementy artykułu to:
 - imię i nazwisko autora wraz z tytułami naukowymi
 - tytuł, streszczenie oraz słowa kluczowe w języku polskim i angielskim
 - piśmiennictwo na końcu artykułu wg kolejności cytowania (poszczególne pozycje zestawione następująco: autor i tytuł artykułu, tytuł czasopisma, rok wydania, tom, zeszyt, strony).
5. Prosimy o podanie informacji dotyczących miejsca pracy, adresu i telefonu kontaktowego (e-mail mile widziany).
6. Redakcja zastrzega sobie prawo do redagowania nadesłanych materiałów.