

# **Przyszłość Diagnostyki Molekularnej:**

---

## **Jak mPOCT zmienia Ochronę Zdrowia**

**mgr Daria Kalkowska**

Specjalista ds. Aplikacji

Dział Klinika – Biologia Molekularna



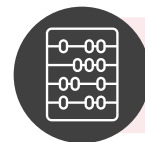
ARGENTA

# mPOCT

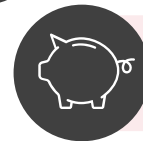
Mobilny punkt opieki diagnostycznej

Jest to termin odnoszący się do zestawu urządzeń diagnostycznych i punktu opieki, które razem umożliwiają szybką diagnostykę w różnych miejscach opieki nad pacjentem:

- **w placówkach medycznych**, takich jak szpitale i gabinety lekarskie
- **w terenie**, mobilnych punktach opieki z utrudnionym dostępem do laboratoriów



ŁATOWOŚĆ UŻYCIA



OPŁACALNOŚĆ



SZYBKOŚĆ WYNIKÓW



DOKŁADNOŚĆ I  
NIEZAWODNOŚĆ



WIELKOFUNKCYJNOŚĆ



MINIMALNE WYMAGANIA  
PRÓBKOWE



ZGODNOŚĆ Z NORMAMI  
REGULACYJNYMI



ŁĄCZNOŚĆ I  
INTEGRACJA



PRZENOŚNOŚĆ



ARGENTA

**Minimalizacja obciążenia pacjenta**

Wystarczy jedna niewielka próbka materiału

**Metoda PCR**

Możliwość diagnostyki zakażeń bezobjawowych

**Przyspiesza diagnostykę**

Szybsza identyfikacja źródeł zakażeń i wdrożenie celowanej terapii

**Zalety implementacji systemu diagnostycznego opartego na biologii molekularnej**

**Precyzyjna technika**

Zmniejsza ryzyko wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych

**Rozszerzona identyfikacja**

Wykrywanie patogenów trudnych do hodowli

**Zautomatyzowana metoda**

Redukcja ryzyka błędów ludzkich i zapewnia powtarzalność wyników



ARGENTA

**Implementacja  
systemów  
diagnostycznych  
mPOCT w  
placówkach  
medycznych**

**Oddziały ratunkowe, mobilne zespoły ratunkowe**

**Mobile punkty diagnostyczne**

**Oddziały szpitalne z hospitalizacją**

**Prywatne kliniki i centra medyczne**

**Centra onkologiczne**

**Placówki medyczne na terenach wiejskich**

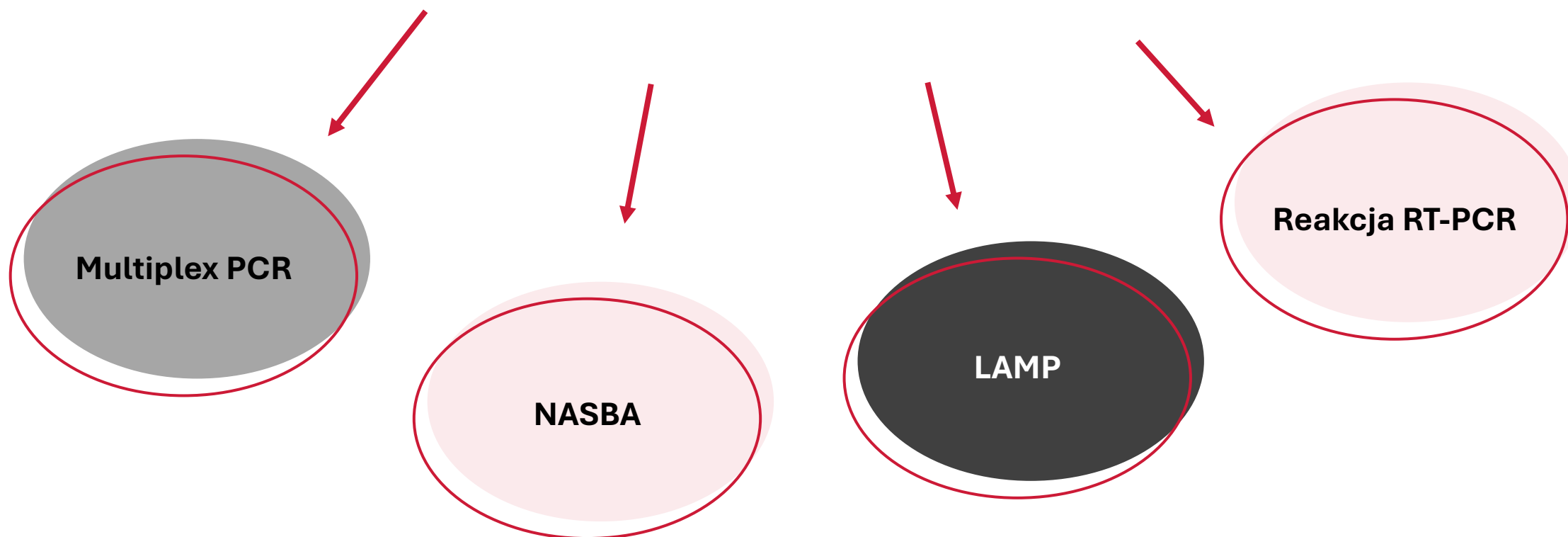
**Gabinety lekarzy rodzinnych**

**Kliniki leczenia niepłodności**



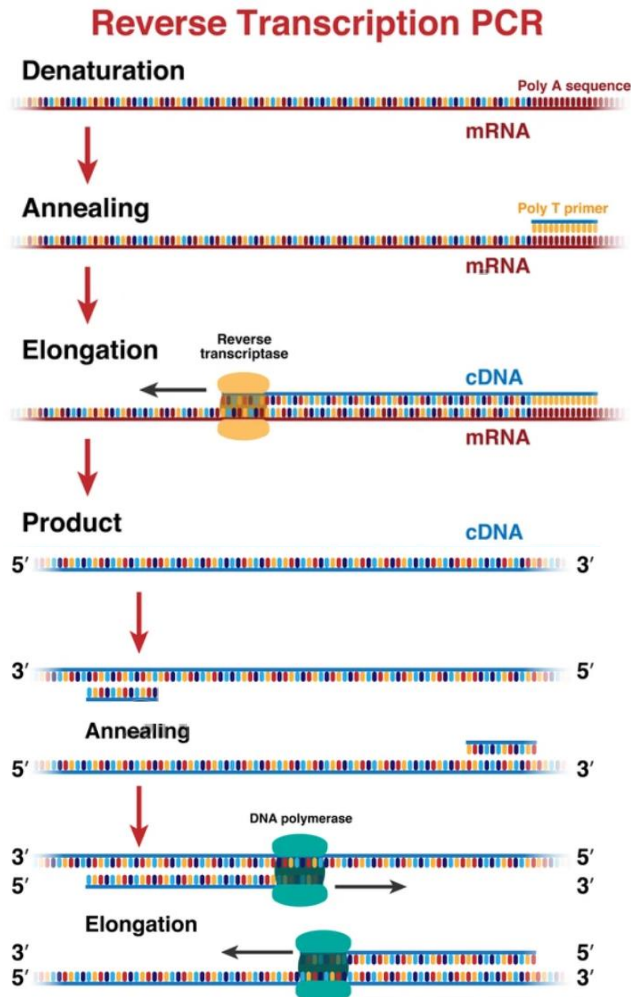
ARGENTA

## Technologie z dziedziny biologii molekularnej Stosowane w diagnostyce mPOCT



# Metoda RT-PCR

Reakcja łańcuchowa polimerazy z odwrotną transkrypcją



## Główne cechy metody RT-PCR:

Wszechstronna i dokładna metoda, która pozwala na ilościowe pomiary RNA i DNA

- **Wymaga cyklicznych zmian temperatury** (denaturacja, przyłączenie starterów, elongacja), co znacznie wydłuża proces.
- **Jest bardziej czasochłonna i wymaga specjalistycznego sprzętu**, ale oferuje wyjątkową czułość i specyficzność.
- **Wrażliwość na zanieczyszczenia:** Metoda jest wrażliwa na zanieczyszczenia takie jak inhibitory polimerazy, które mogą obniżyć wydajność lub całkowicie zahamować aktywność polimerazy

## Zasada działania

1. **Denaturacja** podwójnej nici w temperaturze 95 °C
2. **Hybrydyzacja:** Starter, komplementarny do sekwencji docelowego RNA przyłącza się w swojej temperaturze topnienia.
3. **Enzym odwrotna transkryptaza (RT)** syntetyzuje komplementarny łańcuch DNA (cDNA) na podstawie sekwencji RNA.

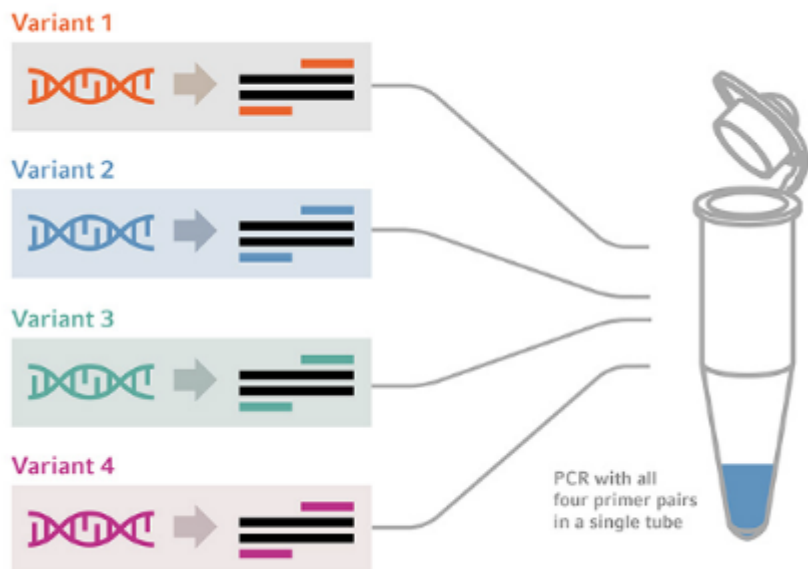
W efekcie powstaje nić cDNA, która jest stosowana jako matryca w kolejnym etapie.

Rozpoczyna się cykliczna faza reakcji PCR gdzie powiela się sekwencje targetu:

4. **Denaturacja** podwójnej nici w 95 °C
5. **Hybrydyzacja** Para starterów komplementarnych do sekwencji cDNA przyłącza się pod wpływem zmiany temperatury.
6. **Elongacja:** Polimeraza DNA syntetyzuje komplementarne łańcuchy DNA na podstawie szablonu cDNA.
7. **Detekcja:** Odczyt sygnału fluorescencji sond które obecne są w reakcji po każdym cyklu

# Metoda Multiplex PCR

Technika skupiająca się na detekcji wielu patogenów w pojedynczej reakcji



## Główne cechy metody Multiplex PCR:

Wysokoprzepustowa analiza wielu genów lub alleli jednocześnie

- **Wymaga cyklicznych zmian temperatury** (denaturacja, przyłączenie starterów, elongacja), co znacznie wydłuża proces.
- **Wykorzystuje wiele primerów**, istnieje ryzyko interakcji co może wpłynąć na błędną interakcję wyników
- **Koszt testów diagnostycznych jest dużo wyższy** ze względu na niezbędną optymalizację procesu oraz wysokoprzepustowość

## Zasada działania

**1. Powielenie fragmentów DNA** odbywa się wg klasycznej reakcji PCR

**2. Analiza temperatury topnienia**

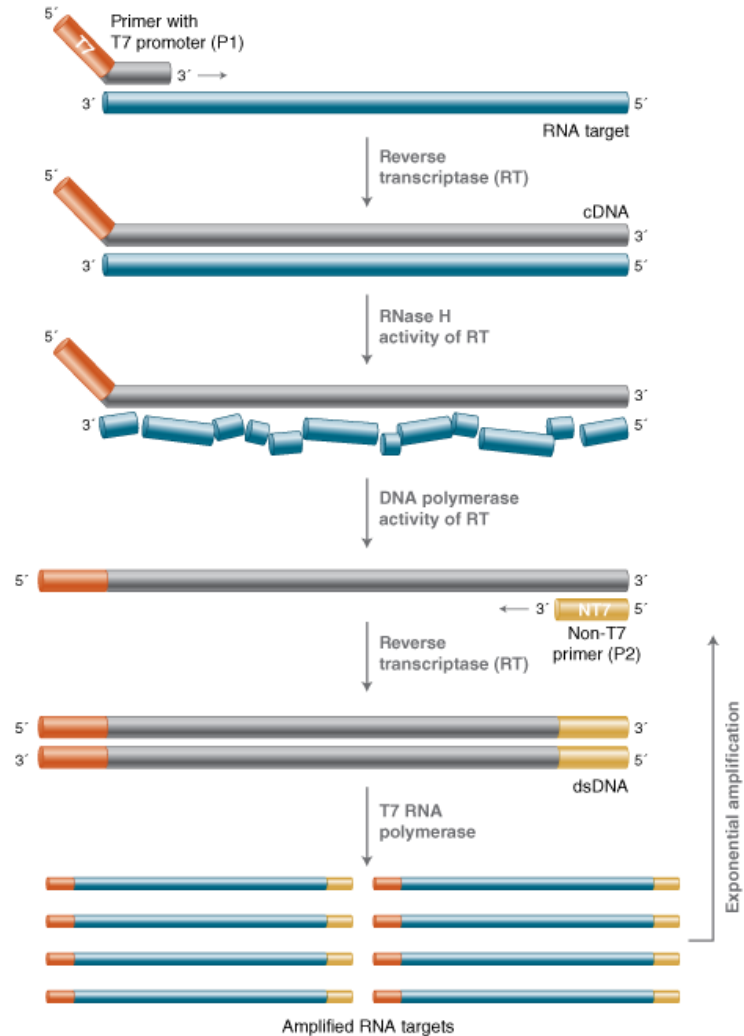
- **Hybrydyzacja sond:** Po zakończeniu cykli PCR, sondy fluorescencyjne łączą się z amplifikowanymi produktami.
- **Stopniowe ogrzewanie:** Próbkę jest stopniowo ogrzewana, co powoduje denaturację (topnienie) dwuniciowych kompleksów DNA-sonda.
- **Monitorowanie fluorescencji:** W miarę wzrostu temperatury, fluorescencja jest monitorowana. Gdy temperatura osiąga punkt topnienia ( $T_m$ ) dla danego kompleksu DNA-sonda, fluorescencja spada, co pozwala na identyfikację poszczególnych fragmentów DNA.

**3. Interpretacja wyników**

- **Krzywe topnienia:** Wyniki są przedstawiane w postaci krzywych topnienia, które pokazują zmiany fluorescencji w funkcji temperatury. Każdy fragment DNA ma charakterystyczny punkt topnienia, co pozwala na jego identyfikację.
- **Rozróżnienie fragmentów:** Różne fragmenty DNA mogą być rozróżnione na podstawie ich charakterystycznych punktów topnienia, co pozwala na jednoczesną detekcję wielu fragmentów w jednej próbce.

# Metoda NASBA

## Nucleic Acid Sequence-Based Amplification



## Główne cechy metody NASBA:

Stosowana do amplifikacji i detekcji RNA

- **Stać temperatura:** Reakcja odbywa się w stałej temperaturze (zwykle 41°C), co upraszcza proces i zmniejsza czas potrzebny na amplifikację.
- **Szybkość:** Proces jest relatywnie szybki, ponieważ nie wymaga cyklicznego zmieniania temperatury.
- **Wrażliwość na zanieczyszczenia:** Metoda jest wrażliwa na zanieczyszczenia, co może prowadzić do fałszywie dodatnich wyników.
- **Prostszy sprzęt:** Nie wymaga termocyklera, co upraszcza proces i zmniejsza koszty.

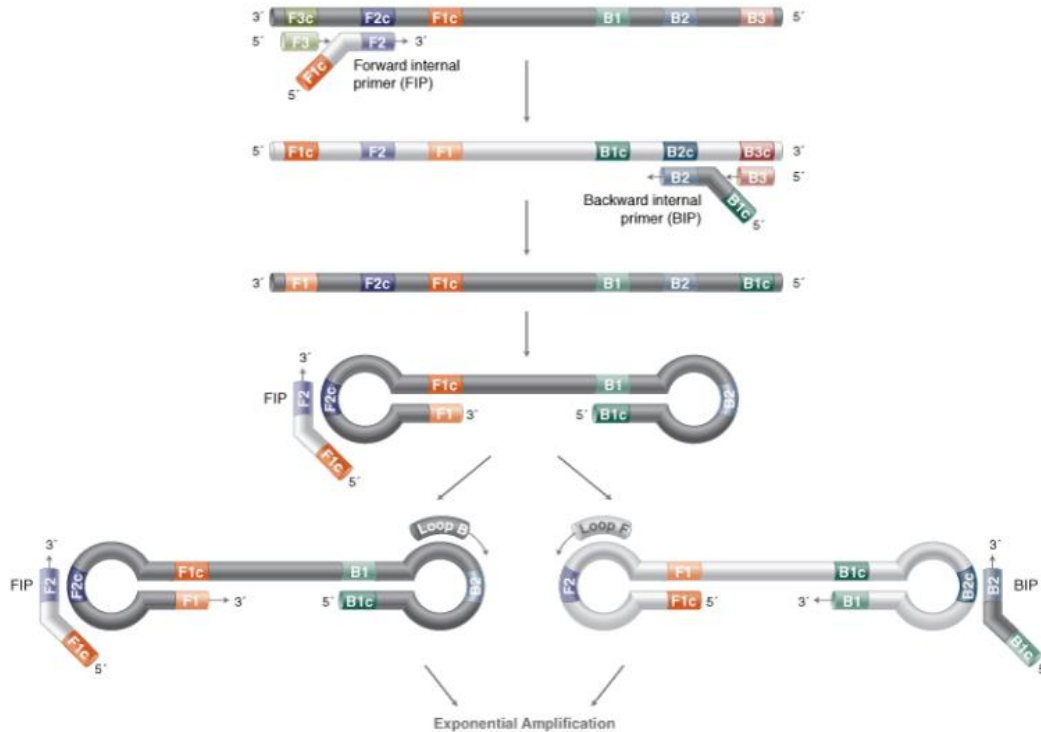
## Zasada działania

1. Starter posiadający sekwencje promotora dla polimerazy T7 RNA jest w stanie przyłączyć się do targetowanej sekwencji RNA – **umożliwia przyłączenie się odwrotnej transkryptazy**
2. Odwrotna transkryptaza syntetyzuje komplementarną nić cDNA – **powstaje hybryda DNA-RNA**
3. Matryca RNA zostaje zdegradowana przez RNAze H, **pozostawiając jedynie fragment cDNA**
4. Łączy się drugi starter, który rozpoczyna syntezę komplementarnej nici DNA
5. Enzym T7 RNA na podstawie matrycy DNA syntetyzuje komplementarną nić RNA – **amplifikacja targetowanej sekwencji RNA**



# Metoda LAMP

## Loop-Mediated Isothermal Amplification



### Główne cechy metody LAMP:

Wszechstronna metoda stosowana do amplifikacji i detekcji DNA, co czyni ją przydatną w szerokim zakresie zastosowań diagnostycznych.

- **Stać temperatura:** Reakcja odbywa się w stałej temperaturze (zwykle 60-65°C), co upraszcza proces i zmniejsza czas potrzebny na amplifikację.
- **Szybkość:** Proces jest relatywnie szybki, ponieważ nie wymaga cyklicznego zmieniania temperatury.
- **Wrażliwość na zanieczyszczenia:** Metoda jest mniej wrażliwa na zanieczyszczenia w porównaniu z NASBA.
- **Prostszy sprzęt:** Nie wymaga termocyklera, co upraszcza proces i zmniejsza koszty.

### Zasada działania

1. **Proces wymaga przynajmniej czterech starterów**, które rozpoznają specyficzne regiony targetowanej sekwencji
2. **Starter FIP** wiąże się z docelowym DNA i **inicjuje syntezę komplementarnego łańcucha DNA** przez polimerazę DNA
3. **Starter BIP** wiąże się z nowo utworzonym łańcuchem DNA i **inicjuje syntezę drugiego komplementarnego łańcucha DNA**
4. Podczas syntezy DNA, Startery FIP i BIP tworzą struktury pętli na końcach amplifikowanych produktów.
5. **Proces amplifikacji jest ciągły i wykładniczy**, ponieważ nowe produkty DNA służą jako szablony dla dalszej amplifikacji - nowe startery mogą wiązać się z pętlami i inicjować dalszą syntezę DNA.

# Szybka diagnostyka molekularna mPOCT

Dla pacjentów z osłabionym układem odpornościowym

- Po wykonanym przeszczepie
- Po chemioterapii
- Z infekcją HIV / AIDS
- Ciężkie niedobory odporności
- Pacjenci immunosupresyjni
- Pacjenci na oddziałach intensywnej terapii

## Infekcje wirusowe

**Ostra mononukleozą zakaźną**  
*Wirus Epstein-Barr (EBV)*

**Wirus opryszczki**  
*Herpes Simplex Virus*

**Cytomegalia**  
*Cytomegalovirus*

## Infekcje bakteryjne

**Gruźlica**  
*Mycobacterium tuberculosis*

**Krztusiec**  
*Bordetella Pertussis*

**Pneumokoki**  
*Streptococcus pneumoniae*

**Legionelloza**  
*Legionella pneumophila*

## Infekcje grzybicze

**Pneumocystoza**  
*Pneumocystis jirovecii*

**Kandydoza**  
*Candida albicans*



ARGENTA

# Zastosowanie Technologii mPOCT W diagnostyce krztuśca

**Krztusiec** jest ostrą chorobą dróg oddechowych, głównie wieku dziecięcego, wywoływaną przez bakterie *Bordetella pertussis*.

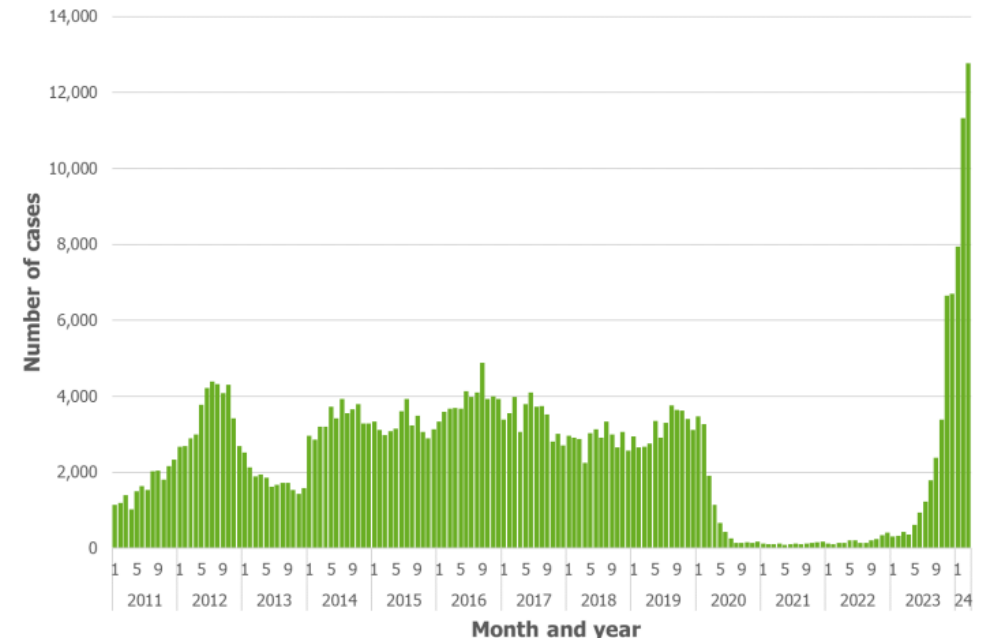
W 2024 roku odnotowano **28-krotny wzrost zachorowalności** w Polsce w stosunku do roku poprzedniego.

## Co może być przyczyną?

- **Zmniejszająca się liczba szczepień** (85,5% - dzieci otrzymało pełną dawkę)
- **Wygasająca odporność** (ostatnia dawka w wieku 14 lat)
- **Cykliczne epidemie** (średnio epidemia nawraca się co 3-5 lat)

*Objawy infekcji nie zawsze są oczywiste lub poważne na początku, ale mogą prowadzić do bardzo poważnych powikłań, jeśli nie zostaną odpowiednio rozpoznane i leczone.*

**Najskuteczniejszą diagnostykę oferują sprzęty z systemem zamkniętym wykorzystujące metody molekularne**



Liczba pacjentów z infekcją *Bordetella pertussis* w krajach Europy  
Raport wydany przez ECDC - do okresu Q1 2024



ARGENTA

# Zastosowanie Technologii mPOCT W diagnostyce Sepsy

**Sepsa jest poważnym stanem zakaźnym**, który stanowi powikłanie ciężkiego zakażenia i charakteryzuje się ogólnoustrojową reakcją zapalną z towarzyszącym uszkodzeniem wielu tkanek i narządów

**Sepsa rozwija się w wyniku ogólnoustrojowego zapalenia**, związanego z zakażeniem bakteryjnym, wirusowym lub grzybiczym

**Ponad 40% przypadków sepsy** nie udaje się potwierdzić czynnika etiologicznego za pomocą badania bakteriologicznego.

## Najgroźniejsze patogeny

### Płeczkowce Gram(-) z grupy Enterobacteriaceae:

*Escherichia coli*,  
*Klebsiella pneumoniae*,  
*Enterobacter*, *Proteus spp.*

### Bakterie z rodziny Streptococcus:

*Streptococcus pyogenes (GAS)*  
*Streptococcus agalactiae (GBS)*  
*Streptococcus pneumoniae*

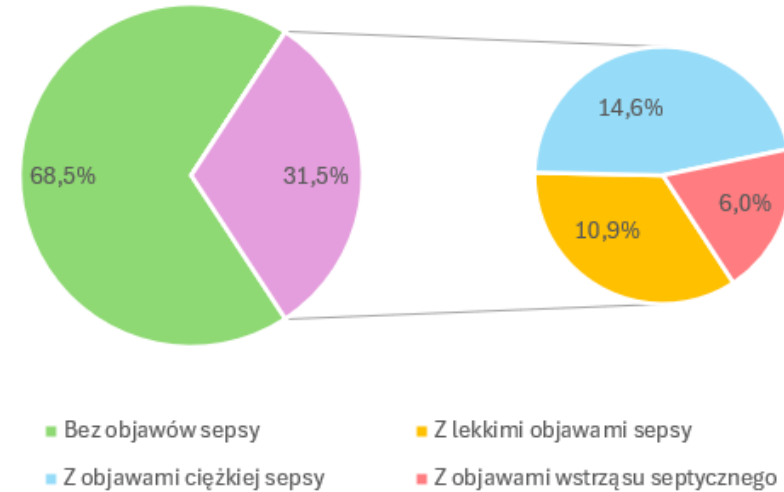
*Staphylococcus aureus*  
*Staphylococcus epidermidis*

*Listeria monocytogenes*

*Neisseria meningitidis*

*Pseudomonas aeruginosa*

## Pacjenci leczeni na oddziałach intensywnej terapii



Na podstawie danych Polskiej grupy roboczej ds. Sepsy



ARGENTA

## Zastosowanie Technologii mPOCT W diagnostyce Infekcji HPV

Szacuje się, że w ciągu życia kontakt z nosicielem wirusa HPV ma około **80% populacji**.

**Okolo połowa** nowotworów raka szyjki macicy jest spowodowana zakażeniem typem **16 wirusa HPV**, a **co piąty przypadek** zakażeniem typem **18 wirusa HPV**.

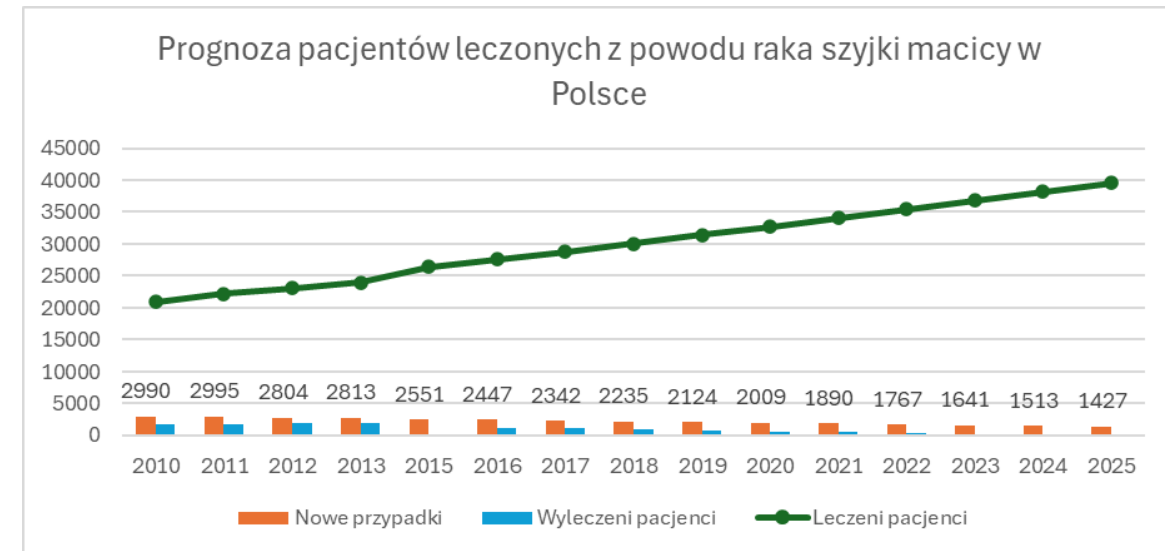
**Szybka i precyzyjna diagnostyka wirusa brodawczaka ludzkiego jest gwarancją:**

- wczesnego wykrycia zmian nowotworowych i przednowotworowych
- Poprawy efektywności programów przesiewowych
- Zwiększenia świadomości społecznej i zachęcenia do regularnych badań przesiewowych oraz szczepień

## Najskuteczniejsze metody diagnostyki HPV:

LAMP

RT-PCR



Na podstawie raportu przygotowanego przez dane-analizy.pl  
Wg Modelu PRADAAAP



ARGENTA

# Zastosowanie Technologii mPOCT W diagnostyce gruźlicy

**Choroba zakaźna** - wywoływana przez bakterie  
*Mycobacterium tuberculosis*

**Globalne wyzwanie zdrowotne** - jest jedną z głównych przyczyn zgonów z powodu chorób zakaźnych na świecie.

Gruźlica może rozwinąć się do  
zaawansowanych stadiów i form  
choroby

Postać  
płucna

Gruźlica  
wielolekooporna

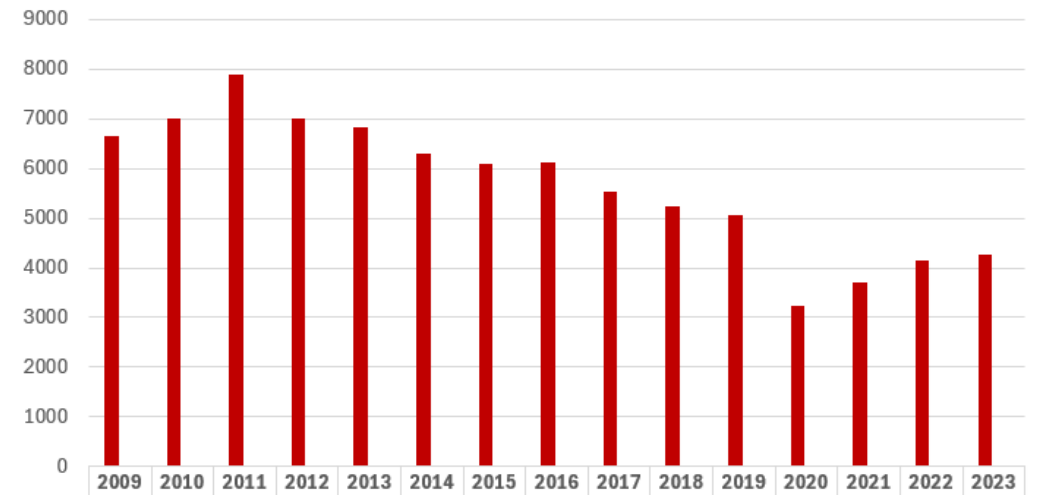
Gruźlica  
rozsiana

Postać  
pozapłucna

**Stosowanie technik biologii molekularnej gwarantuje:**

- Szybkie i skuteczne wykrycie infekcji
- Zwiększenie efektywności leczenia
- Zapobieganie transmisji

Zachorowalność na gruźlicę w Polsce



**Współczynnik  
zapadalności  
Na 100 000  
ludności**

17,4 18,3 20,7 18,4 17,9 16,6 16,0 16,1 14,6 13,8 13,4 8,6 9,9 11,0 11,3

Na podstawie danych z [stat.gov.pl](https://stat.gov.pl)



ARGENTA

# iPonatic III S-Q36A

Nowoczesny system Point-Of-Care od Sansure

Parametry techniczne	
Waga	7,2 kg
Wymiary	391 mm×140 mm×368 mm (L×W×H)
Czas badania	15 – 45min
Maksymalna szybkość nagrzewania	≥10°C/sek
Maksymalna szybkość chłodzenia	≥3°C/sek
Dokładność temperatury	±0,5°C
Interfejsy/komunikacja	USB2.0, RJ45, Type-C, WI-FI, Bluetooth, LIS_LH7
Certyfikaty	CE-IVD



1 Wielomodowość

2 Wbudowana lampa UV

3 Bezprzewodowe połączenie

4 7 calowy ekran dotykowy HD

5 Połączenie LIS

6 Podgląd reakcji



ARGENTA

# iPonatic

## Cechy zestawów diagnostycznych Sansure



**Kontrola wewnętrzna**



**Bufor uwalniający próbkę**

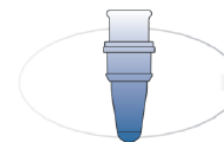


**PCR mix**



**Enzym**

**Technologia  
„One-Step”  
Fast Release**



**Niewymagane:**  
*Podgrzanie próbki*  
*Wirowanie próbki*

**NASTAW TEST  
RT-PCR  
W 5 MINUT**

**Odczynniki  
Reakcji PCR**

*Wprowadzane są w  
Zamkniętych probówkach*

**BRAK  
KONTAMINACJI**



ARGENTA



# iPonatic

W pełni zautomatyzowany system zamknięty

Przygotuj  
kasetę



Dodaj  
próbkę



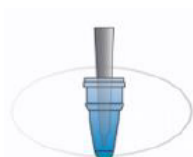
Wprowadź  
do  
urządzenia



Wybierz  
test



Sprawdź  
wyniki



PROSTA  
ANALIZA  
METODĄ RT-PCR



1

EKSTRAKCYJA  
MATERIAŁU

2

AMPLIFIKACJA

3

ANALIZA DANYCH



PODGLĄD  
PROCESU W  
CZASIE  
RZECZYWISTYM

# iPonatic

Szeroki katalog testów do wyboru

Ponad 30 testów diagnostycznych do wyboru

## INFEKCJE BAKTERYJNE

*Mycoplasma genitalium*  
*Mycoplasma hominis*  
*Trichomonas vaginalis*

*Chlamydia Trachomatis*  
*Ureaplasma Urealyticum*  
*Neisseria Gonorrhoeae*

**Diagnostyka urogenitalna**

## INFEKCJE WIRUSOWE

*Human papillomavirus*  
15 typów wysokiego ryzyka

*Human papillomavirus*  
Typy onkogenne 16 i 18

**Diagnostyka urogenitalna**

## INFEKCJE WIRUSOWE

*Epstein-Barr Virus*

*Małpia ospa*

**Zakażenia oportunistyczne**

## INFEKCJE BAKTERYJNE

*Acinetobacter baumannii*  
*Candida albicans*

*Streptococcus z grupy B*

**Zakażenia oportunistyczne**

## INFEKCJE BAKTERYJNE

*Gen KPC – karbapenemaza Klebsiella pneumoniae*

**Diagnostyka lekooporności**

**Diagnostyka chorób układu oddechowego**

## INFEKCJE BAKTERYJNE

*Mycobacterium Tuberculosis*

*Mycoplasma Pneumoniae*

*Bordetella Pertussis*

*Legionella pneumophila*

*Streptococcus Pneumoniae*

## INFEKCJE WIRUSOWE

*SARS-CoV-2*  
*Wirus Grypy*  
*RSV*

*Parainfluenza Virus*  
Typ 1, 2, 3

*Adenovirus*



ARGENTA



SZPITAL ŚW. ŁUKASZA  
w Bolesławcu



Sansure



ARGENTA

## Ewaluacja systemu zamkniętego iPonatic III



MALDI Biotyper®  
sirius System



Biofire  
FilmArray® multiplex  
PCR system



VIDAS®

**VS**



iPonatic III  
S-Q36A

Nazwa testu	Wykrywane patogeny
Six Respiratory Pathogens	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Influenza A Virus</li> <li>2. Influenza B Virus</li> <li>3. Respiratory Syncytial Virus (RSV)</li> <li>4. Adenoviruses (Adv)</li> <li>5. Human Rhinovirus (HRV)</li> <li>6. Mycoplasma Pneumoniae (MP)</li> </ol>
SARS-CoV-2, Influenza Virus and Respiratory Syncytial Virus	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. SARS-CoV-2</li> <li>2. Influenza Virus</li> <li>3. Respiratory Syncytial Virus</li> </ol>
Mycoplasma Pneumoniae	<i>Mycoplasma Pneumoniae</i>
Bordetella Pertussis	<i>Bordetella Pertussis</i>
Epstein-Barr Virus (EBV)	<i>Epstein-Barr Virus</i>
Group B Streptococcus	<i>Group B Streptococcus</i>

Wykonane badania jakościowe pokrywają się w **100%** z metodami odniesienia.

**Dziękuję za uwagę**

**Daria Kalkowska**

Specjalista ds. Aplikacji

**Dział Klinika – Biologia Molekularna**

**+48 571 603 824**

*d.kalkowska@argenta.com.pl*



ARGENTA