

Stanovení novoroze- neckého bilirubinu POCT technikami

M. Kajabová

ÚVOD

Novorozenecká hyperbilirubinémie nastává u více než 60 % novorozenců narozených v termínu a asi u 80 % narozených v předtermínu. Ve většině případů se jedná o fyziologickou hyperbilirubinémii, která se objevuje kolem 3. dne po porodu a mizí do konce prvního týdne. V případě patologické hyperbilirubinémie dochází k rychlému vzestupu bilirubinu do velmi vysokých hodnot, přestupu volného bilirubinu přes hematoencefalickou bariéru a potenciálnímu poškození mozku. Monitorování koncentrací bilirubinu umožňuje včas nasadit vhodnou terapii a zamezit tak možným komplikacím.

BILIRUBIN A POCT – MOŽNÝ PŘÍNOS

Současné technologie umožňují stanovení bilirubinu přímo v místě péče o novorozence, a to jednak metodou přímé fotometrie v plné krvi, jednak pomocí transkutánního měření.

Stanovení bilirubinu metodou přímé fotometrie umožňuje snížit objem odebrané krve oproti stanovení v biochemické laboratoři - analyzátory pracují s objemy krve v řádu desítek μl - a také získat výsledky ve stejném čase s výsledky parametrů acidobazického stavu, iontů a některých metabolitů.

Velkou předností transkutánní bilirubinometrie je její neinvazivnost. Lze tedy očekávat, že měření transkutánního bilirubinu by mělo vést ke snížení

incidence komplikací, které mohou nastat po odběru krve z patičky, jako jsou infekce a osteomyelitida.

Zkrácení doby odezvy (turnaround time, TAT) je obvykle hlavním důvodem pro vyšetřování daného parametru v režimu POCT. Jelikož klinická informace o koncentraci sérového bilirubinu není obvykle tak naléhavá jako v případě vitálních parametrů, jako jsou parametry acidobazického stavu, kalium nebo glukóza, tato výhoda není u nemocnic s dostupnou biochemickou laboratoří příliš relevantní.

PŘÍMÁ FOTOMETRIE

Metody pro spektrofotometrické stanovení bilirubinu v plné krvi byly vyvinuty ke konci 90. let, ačkoliv metody pro přímé stanovení bilirubinu jsou dostupné mnohem déle. K analýze se používají analyzátory parametrů ABS, iontů a metabolitů vybavené kooximetrem, který umožňuje stanovit bilirubin i různé formy hemoglobinu (celkový, oxy-, karboxy-, sulf- a methemoglobin). Ačkoliv absorpční spektra bilirubinu a hemoglobinu jsou odlišná, velký rozdíl v koncentracích obou parametrů vyžaduje komplexní měřicí proces. Analyzátory rovněž musí být schopny správně kvantifikovat jednotlivé formy bilirubinu, které se liší svými absorpčními maximy:

- Nekonjugovaný bilirubin 459 nm
- Konjugovaný bilirubin 422 nm
- Delta-bilirubin 433 nm

Kooximetrické moduly měří při více vlnových délkách, jejichž počet a rozsah se u různých přístrojů liší (viz tabulka 1). Měření lze provést v nehemolyzovaném vzorku nebo po chemické nebo ultrazvukové hemolýze. Celkový bilirubin je počítán složitým výpočetním algoritmem a vyjadřován v ekvivalentech sérové koncentrace.

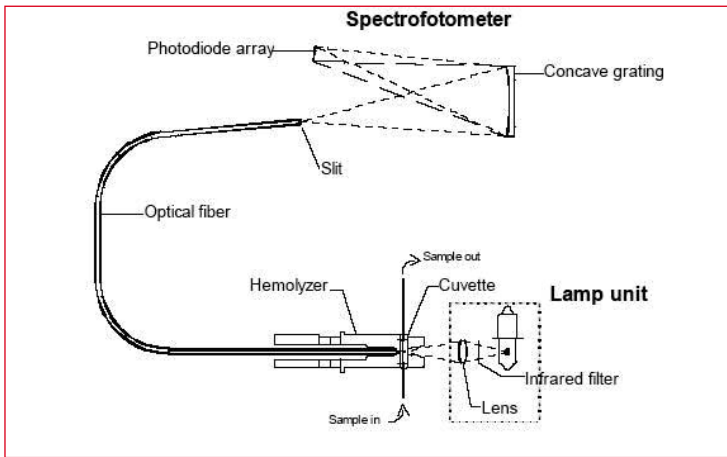
Tabulka 1

Výrobce	Přístroj	Rozsah λ	Počet λ	Hemolýza
Radiometer	ABL 835	478 - 672	128	ultrazvuková
Siemens	RapidLab 1265	500 - 680	256	ne
Roche	OMNI S	460 - 660	512	ultrazvuková
Nova	Stat Profile CCX	557 - 650	7	ultrazvuková
IL	GEM 4000	480 - 650	cca 1000	chemická

TRANSKUTÁNNÍ MĚŘENÍ BILIRUBINU

Transkutánní bilirubinometry měří množství bilirubinu přestupujícího ze séra do kožní tkáně. Byla vyslovena hypotéza, že mechanismus ukládání bi-

lirubinu v tkáních je podobný mechanismu, jakým bilirubin překračuje hematoencefalickou bariéru. Z toho lze usuzovat, že transkutánní bilirubin by mohl být lepším prediktorem potenciálního poškození mozku než sérový bilirubin.



Obrázek 1: Optický systém analyzátoru Radiometer ABL 800 FLEX

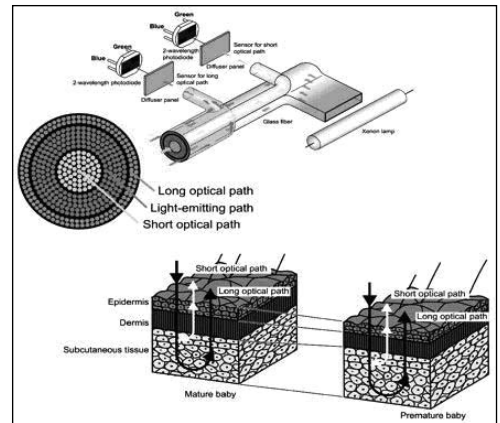
Na reflektanci kůže novorozence se podílejí melanin, zralost kožní tkáně, hemoglobin a bilirubin. Na kvalitě výsledků se rovněž odráží místo měření. Nejlepší korelace se sérovým bilirubinem vykazuje měření na čele a sternu. Maisels a kol. uvádějí lepší korelace pro sternum ($r = 0,953$) než pro čelo ($r = 0,914$), důvodem je pravděpodobně menší vystavení sternu slunečnímu záření. Korelaci transkutánního bilirubinu se sérovým bilirubinem rovněž nepříznivě ovlivňuje fototerapie. NACB doporučení o POCT z roku 2007 nedoporučuje použití transkutánních bilirubinometrů u novorozců na fototerapii, nicméně Zecca a kol. v roce 2009 prokázali dobrou shodu mezi transkutánním a sérovým bilirubinem při měření na místech zakrytých speciální náplastí dodávanou výrobcem bilirubinometru.

První pokusy o neinvazivní měření bilirubinu spadají do roku 1960, kdy Gosset popsal použití ikterometru. Toto zařízení, založené na měření reflektance, bylo málo citlivé a specifické a poskytovalo výsledky s reprodukovatelností 20 – 40 %.

První sofistikovaný přístroj pro neinvazivní měření bilirubinu – Minolta/Air Shields Jaundice Meter – byl uveden na trh v roce 1980. Tento přístroj a následující model JM-102 poskytovaly číselný index vyžadující korelaci k sérovému bilirubinu. Přístroj ColorMate III (Chromatics Color Sciences International Inc.), pracující v rozmezí vlnových délek 460 – 550 nm, vyžadoval bazální měření sérového bilirubinu u každého novorozence.

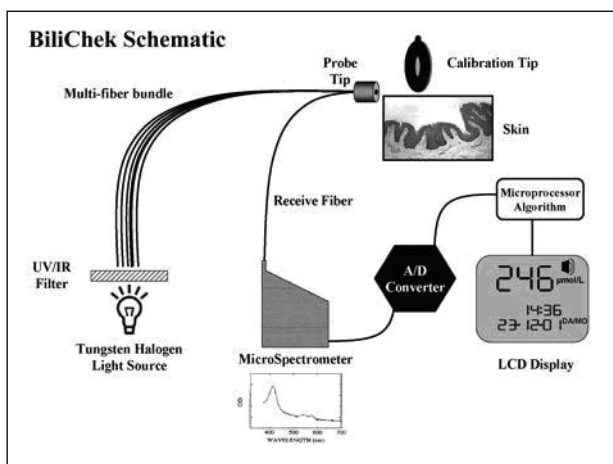
Současné přístroje již nevyžadují bazální měření a umožňují korekci hodnot na barvu a zralost kůže. Ačkoliv na trhu je dostupná řada bilirubinometrů, americká FDA uvolnila pro klinické použití ve Spojených státech pouze dva, JM-103 a BiliChek.

JM 103 (Dříve Minolta, nyní Dräger Medical) používá měření při vlnových délkách 460 a 550 nm pomocí duálního optického systému pro minimalizaci interference melaninu a nezralosti kožní tkáně. Jeden paprsek světla dosahuje pouze do povrchových vrstev podkožní tkáně a po odrazu prochází vnitřním jádrem optického vlákna (krátká optická cesta), druhý paprsek proniká do hlubších vrstev podkožní tkáně a prochází vnějším jádrem optického vlákna (dlouhá optická cesta). Odražené světlo je detekováno fotodiodami (viz obrázek 2).



Obrázek 2: Princip měření JM-103

BiliChek (Philips Respironics) měří v rozsahu vlnových délek 380 – 760 nm a používá více než 100 čtecích bodů. To umožňuje korekci na interferující faktory, jako jsou hemoglobin, melanin a tloušťka kůže. Výhodou přístroje je možnost připojení čtečky barkódů a připojení do LIS, nevýhodou nutnost použití čisté vyměnitelné špičky u každého měření, což výrazně navyšuje cenu měření. Měřící princip je znázorněn na obrázku č. 3.



Obrázek 3: Princip měření BiliCheku

ANALYTICKÁ KVALITA POC TECHNIK

Studie ukazují dobrou shodu hodnot získaných POCT technikami s laboratorními metodami. Korelace s laboratorními hodnotami sérového bilirubinu je v případě transkutánní bilirubinometrie nižší než u metod přímé fotometrie. Vzhledem k tomu, že transkutánní bilirubinometry měří poněkud jiný analyt než laboratorní metody a metody přímé fotometrie, to nemusí znamenat horší analytickou kvalitu těchto zařízení. POCT analyzátory vykazují dobrou opakovatelnost i mezilehlou přesnost, naopak výsledky studií ohledně bias jsou rozporuplné – bias byl měřen vůči laboratorní, nikoliv referenční metodě. Nelze proto určit, kterou technickou jsou způsobeny klinicky významné rozdíly mezi hodnotami naměřenými v laboratoři a na POCT přístroji.

V této souvislosti nelze nezmínit špatnou porovnatelnost laboratorních výsledků celkového bilirubinu v séru získaných soupravami různých výrobců. Skupina Roche vykazuje v cyklech EHK po recalibraci metody zápornou odchylku vůči průměru výsledků všech účastníků, nicméně dle komentáře k cyklu EHK AKS4/10 vykazuje průměr skupiny Roche dobrou shodu s referenční metodou měření. Je tedy nezbytné zlepšení návaznosti k referenční metodě a primárnímu referenčnímu materiálu SRM-NIST 916a i u metod ostatních výrobců.

ZÁVĚR

Obě POCT metody stanovení bilirubinu jsou vhodnou alternativou k laboratorním metodám za těchto podmínek:

- Nutnost úvodní verifikace POCT zařízení, včetně porovnání s laboratorní metodou a určení cut-off, kdy je nutné naměřené hodnoty konfirmovat v laboratoři
- Důsledná edukace personálu provádějícího měření
- Účast v cyklech EHK, v případě transkutánní bilirubinometrie alespoň paralelní stanovení sérového bilirubinu v laboratoři.

LITERATURA

1. El-Beshbishi S. N., Shattuck K. E., Mohammad A. A., Petersen J.R.: Hyperbilirubinemia and transcutaneous bilirubinometry. Clin Chem, 55, 2009, 1280-1287.
2. Carceller-Blanchard A., Cousineau J., Delvin E. E.: Point of care testing: Transcutaneous bilirubinometry in neonates. Clin Biochem, 42, 2009, 143-149.
3. Grohmann K., Roser M., Rolinski B., Kadow I., Müller C., Goerlach-Graw A., Nauck M., Küster H.: Bilirubin measurement for neonates: Comparison of 9 frequently used methods. Pediatrics, 117, 2006, 1174-1183.
4. Zecca E., Barone G., De Luca D., Marra R., Tiberi E., Romagnoli C.: Skin bilirubin measurement during phototherapy in preterm and term newborn infants. Early Human Development, 85, 2009, 537-540.