Přečetli jsme za vás

B. Friedecký

Přečetli jsme za vás, (možná i s vámi). Komentovaný výběr aktuálních analytických zajímavostí a novinek.

Aktualizace údajů o laboratorní diagnostice a sledování terapie diabetu

NACB (National Academy of Clinical Biochemistry) je součástí Americké asociace klinické chemie AACC (American Assotiation of Clinical Chemistry), která se zabývá vzděláváním a profesionálním rozvojem pracovníků laboratorní medicíny USA. Důležitou součástí její činnosti je publikace odborných doporučení LMPG (Laboratory Medicine Practical Guidelines). Tato doporučení jsou založena na přístupech medicíny, založené na důkazech - EBM(Evidence Based Medicine). Jsou uveřejňována v elektronické podobě a volně přístupná.

V roce 2002 bylo publikováno doporučení NACB o laboratorní diagnoze diabetu mellitu, jehož znění se výrazně promítlo i do obdobného doporučení ČSKB. V tomto roce (2008) byla na stránky AACC umístěna aktualizovaná verze tohoto doporučení: NACB-LMPG Diabetes mellitus Update Draft (Version 1107). Má 85 stran textu a 266 literárních odkazů. K vyhledání je na adrese http://www.aacc/resourcecenter.

Souběžně bylo přijato společné stanovisko diabetologických společností a IFCC k celosvětové standardizaci měření HbA1c pomocí referenční IFCC metody. Jeho závěry lze nalézt v bulletinu FONS (číslo 4/2007) nebo na stránkách www.ifcc.org.

S pomocí těchto zdrojů byla vytvořena a na webové adrese www.sekk.cz/infoservis umístěna elektronická prezentace „Laboratorní vyšetřování diagnozy a sledování diabetu. Aktualizace 2008.“

Příčiny diskrepance výsledků měření albuminu v moči- metodologie nebo skladování vzorků?

Mezi výsledky stanovení albuminu v moči běžně používanými imunochemickými metodami a metodami HPLC existují signifikantní systematické diference (metoda HPLC poskytují významně vyšší výsledky). V posledních několika letech jsou velmi často diskutovány příčiny tohoto jevu a také problém, které výsledky jsou pravdivější.V úvahu připadá podhodnocování výsledků imunochemickými metodami, způsobené tím, že část albuminu ztrácí při průchodu ledvinami imunoreaktivitu. Stejně však může docházet k nadhodnocování výsledků metodami HPLC vlivem možné koeluce jiných močových proteinů z kolon (v úvahu přichází například Tamm-Horsfallův protein). K tomu všemu přistupuje další komplikující skutečnost, že výsledky měření mohou být velmi silně ovlivněny zmrazováním vzorků močí před analýzou. Zdá se dokonce, že metody HPLC jsou ovlivněny skladováním zmrazených vzorků podstatně více, než metody imunochemické.

Zatím můžeme za své přijmout dva závěry:

- skladování zmrazených vzorků močí k stanovení albuminu je nevhodné
- není zatím jasné, zdali metody HPLC poskytují správnější výsledky, než metody imunochemické a naopak

Uvedené informace v podrobnější podobě a s uvedením dvou základních recentních literárních odkazů jsou součástí výše zmíněné elektronické prezentace “Laboratorní vyšetřování diagnosy a sledování diabetu. Aktualizace 2008“ na stránkách www.sekk.cz/infoservis

Konec Jaffého reakce ?

Ke korektnímu výpočtu odhadu glomerulární filtrace (eGFR) je zapotřebí výsledků sérového kreatininu s minimální hodnotou bias. K tomu je zapotřebí splnit dvě základní podmínky. První je návaznost rutinních metod na referenční metodu ID-MS (izotopová diluce-hmotnostní spektrometrie). Druhou podmínkou je dostatečná analytická specifičnost rutinní metody, bez které jsou výsledky měření zatíženy proporcionální systematickou chybou,vedoucí neodvratně k významné hodnotě positivního bias při koncentracích kreatininu pod cca 130 µmol/l, tedy při koncentracích pro výpočet eGFR kritických. Původní představou pracovní komise IFCC bylo provedení důsledné rekalibrace diagnostických kitů výrobců IVD na metodu ID-MS. V tomto smyslu byly také formulovány společné závěry této komise a pracovní skupiny NKDEP (National Kidney Disease Education Program). Je možné je nalézt na adrese www.ifcc.org (po otevření ikony NKDEP). Takové úsilí se však jeví marné, protože není touto cestou možné redukovat na přijatelnou míru proporcionální systematickou chybu způsobenou nízkou analytickou specifičností metod, založených na Jaffého reakci. Marnost takového úsilí je markantně demonstrována například na výsledcích kontrolního programu AKS2/08 SEKK. Výsledky, dosažené v kontrolních programech Německé společnosti laboratorní medicíny

(DGKL) vedou k stejným závěrům o neefektivnosti rekalibrace metod na ID-MS, založených na Jaffého reakci. V současnosti dospěla pracovní skupina IFCC k závěru (který se nabízel už před samotným zahájením rekalibrační kampaně), že ke korektnímu výpočtu eGFR je zapotřebí použít metod jednak s návazností na ID-MS, jednak dostatečně analyticky specifických. Jinak řečeno, enzymatických metod stanovení sérového kreatininu. Tento razantní závěr byl publikovaný M. Panteghinim jménem a se souhlasem pracovní skupiny IFCC v časopise Clin Chem Lab Med, 2008, 46, 567-572 pod výmluvným názvem „Enzymatic assays for creatinine.time for action".

Nahlédnutím do archivu výsledků SEKK zjistíme, že tato akce je v ČR na samotném počátku, protože laboratoří, používajících enzymatických metod je zatím žalostně málo. V inkriminovaném programu AKS2/08 SEKK jich bylo devět. Zato však dosáhly stoprocentní úspěšnosti.

Přehlednou elektronickou prezentaci stavu standardizace měření sérového kreatininu a s tím souvisejícího odhadu eGFR naleznete na adrese www.sekk.cz/infoservis pod názvem „Stanovení kreatininu v krevním séru a odhad glomerulární filtrace (eGFR)".

Proteomika, problémy, preanalytika

Proteomika má obrovský potenciál objevovat nové diagnostické biomarkery s mnohem vyšší sensitivitou a specifičností, než vykazují biomarkery klasické. Situace se však často vyvíjí tak, že po úvodních studiích s vynikajícími výsledky se v dalších fázích výzkumu prvotní naděje do biomarkeru vkládané sníží nebo i rozplynou. Prostě se jejich klinická efektivita nepodaří reprodukovat. Tou další fází často bývají už první mezilaboratorní studie, ale stává se, že původní výsledky se nedaří reprodukovat v žádoucím rozsahu ani na nové skupině jiných pacientů v objevitelské laboratoři.

V prvním čísle časopisu Clinical Chemistry v roce 2008 je taková situace demonstrována u stanovení sérového proteomického profilu k detekci karcinomu prostaty metodou SELDI-TOF-MS. Je však oprávněné předpokládat, že analogické situace nastávají i u jiných proteomických metod a analýz.

Příčinou problémů je nedostatečná znalost preanalytických vlivů. V podstatě jde o stejné preanalytické vlivy, jaké se projevují u klasických analytů a biomarkerů. O odběr, skladování, cykly opakovaných zmrazování a rozmrazování, vlivy diety, věku, pohlaví. Je pravděpodobné, že proteomické analýzy budou ovlivňovány řadou preanalytických faktorů ještě více, než klasické biomarkery například vznikem fragmetů in vitro štěpením proteásami při odběru do nevhodných zkumavek.

Cesta k zlepšení výsledků proteomických analýz je principiálně stejná jako u každého jiného analytu.

- Důkladná validace analytického postupu podle striktního protokolu
- Důkladná klinická validace
- Formulování a dodržování preanalytických procesů
- Funkční kontrola kvality
- Standardizace metodických postupů

Ross RE. Clin Chem, 2008, 54, 1, 6-7
McLerran a spol. Clin Chem, 2008, 54, 1, 44-52
McLerran a spol. Clin Chem, 2008, 54, 1, 53-60