

AQT Flex – POCT analyzátor pro stanovení markerů poškození myokardu

S. Vaingátová, L. Dubská

Úvod

Biochemické markery poškození myokardu jsou neustále v popředí zájmu laboratorních i klinických pracovníků. Také firmy zaměřené na výrobu přístrojů pro in vitro diagnostiku se snaží vyjít vstříc novým požadavkům svých zákazníků a na trhu se objevují nové přístroje schopné splnit nejnovější doporučení odborných společností na vyšetřování těchto markerů.

Dle současného doporučení ČSKB (1) jsou mezi tyto markery řazeny srdeční troponiny (TnT, TnI), izoenzym kretinkinázy – CK-MB (stanovení hmotnostní koncentrace), myoglobin a natriuretické peptidy. Dle dalších doporučení (2) jsou upřednostňovány srdeční troponiny, CK-MB mass a natriuretické peptidy.

Doba odezvy pro stanovení srdečních biomarkerů (TAT) je doporučována max. 60 minut, u pacientů z koronárních JIP je pak výsledek požadován do 30 minut (1).

POCT analyzátoři

Požadavek na co nejkratší dobu odezvy vyvolal zájem o stanovení kardiálních markerů v POCT režimu. Specifickým pro POCT analyzátoři je požadavek na schopnost měřit daný analyt v plné krvi, ošetřené antikoagulačním činidlem, požadavek na snadnou obsluhu, pokud možno automatickou periodickou kalibraci i automatické měření kontrolních vzorků. Výhodou je též připojení do LIS a dálková správa pro supervizi ze strany laboratoře. Technika měření patientských vzorků by měla být velmi jednoduchá, neboť se předpokládá, že přístroj není obsluhován laboratorním personálem, ale zaškolenými zdravotními sestrami, pro které je tato činnost jen doplňkem jejich náročné pracovní náplně. Měření probíhá přímo na JIP nebo ARO a TAT se tak zkracuje na minuty. V současnosti je několik komerčně dostupných POCT analyzátorů pro diagnostiku srdečních markerů. Jedním z nejnovějších přístrojů je analyzátor firmy Radiometer AQT 90 Flex.

AQT 90 Flex

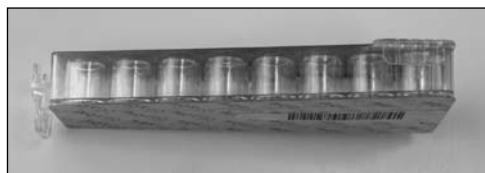
AQT 90 Flex (obr. 1) je stolní analyzátor o rozměrech (š x v x h) 460 x 450 x 480 mm a hmotnosti 35 kg. Stanovení se provádí z plné krve v primárních

zkumavkách o velikosti 13 x 65 mm až 13 x 78 mm, vhodné antikoagulační činidlo (EDTA, Li-Hep, Citrát 3,2 %) je určeno příslušnou metodou, nelze používat zkumavky s gelem. Analyzátor podporuje běžné typy odběrových zkumavek (Sarstedt, Becton Dickinson, Terumo, Greiner) (3). Analyzátor má zabudovaný vertikální rotační držák na 2 zkumavky. Po promíchání obsahu zkumavky je vzorek plné krve pipetován do testovacího kalíšku (obr. 2). Minimální objem vzorku ve zkumavce je 2 ml bez ohledu na počet požadovaných vyšetření. V zájmu zamezení nesprávných výsledků vlivem chyb při odběru je však důležité vakuové zkumavky naplnit po rysku, aby byl zachován správný poměr antikoagulačního činidla a krve (zejména při použití zkumavek s kapalným citrátem). V mimořádných případech je možné použít speciální zkumavky, ve kterých je minimální objem zredukován na 420 μ l. Vedle testovacích souprav pro kardiální markery vč. NT-proBNP jsou k dispozici též soupravy pro stanovení β hCG, CRP a D-dimeru. Ve vývoji pro rok 2010 jsou dále soupravy pro stanovení TnT, hsCRP, PT-INR a APTT.



Obr. 1 AQT 90 Flex

Principem stanovení na analyzátoru AQT 90 Flex je jedнокroková heterogenní sendvičová imunoanalýza. Biotinylované monoklonální protilátky imobilizované na streptavidinovém vnitřním povrchu testovacího kalíšku tvoří se stanoveným analytem a protilátkami značenými europiem sendvičový komplex. Výsledná koncentrace je kvantifikována porovnáním intenzity signálu vzorku získaného principem časově rozložené fluorimetrie (time-resolved fluorescence FTR) a kalibrační křivky uložené v SW analyzátoru.



Obr. 2 Zásobník s testovacími kalíšky

Doba stanovení jednoho testu je řádově 20 min, u více požadovaných testů v jednom vzorku se celková doba stanovení prodlužuje o 2 minuty za každý test. Další zkumavku se vzorkem (po obsazení obou míst v rotačním držáku zkumavek) je možné do analyzátoru vložit po uplynutí doby potřebné pro aspiraci vzorku (2 min na každý zadaný test). Při plném zatížení analyzátoru je tak k dispozici vždy jeden výsledek za 2 minuty. U libovolného vzorku lze provést maximálně 5 testů, toto omezení vyplývá z maximálního počtu propíchnutí víčka stejné zkumavky.

Testovací soupravy (obr. 3) jsou dodávány v balení po 160 (CK-MB, Myoglobin, TnI, NT-proBNP a β hCG) resp. 80 (CRP, D-dimer) testech. Jednotlivé zásobníky obsahující 8 nebo 16 testů jsou po vložení do analyzátoru použitelné po dobu 16 – 31 dní. Nejkratší expiraci reagentie má metoda pro stanovení myoglobinu, naopak nejdéle lze mít na palubě reagentie pro stanovení D-dimeru. S každou soupravou testů je dodáván jeden kalibrační zásobník. Kalibrace je vyžadována při změně šarže reagentie testu, trvá 45 minut.

Měřicí rozsah jednotlivých metod je uveden v tabulce 1. V analyzátoru AQT 90 Flex nelze, na rozdíl od jiných analyzátorů, použít ředění vzorků. Auto-



Obr. 3 Testovací soupravy

matically se předředují pouze vzorky pro stanovení D-dimeru a CRP, proto je celkový počet testů v jedné soupravě poloviční.

Stranou od testovacích zásobníků je v analyzátoru umístěna kazeta s reagentiemi a pufrem, který se používá v reakci a pro proplach cesty vzorku. Současně je v této kazetě uzavřena sběrná schránka pro veškerý odpad. Analyzátor tak kromě papíru do tiskárny potřebuje pouze dva druhy spotřebního materiálu, a to kazetu s reagentiemi a zásobníky pro jednotlivé testy. Vzhledem k interaktivnímu menu v češtině zvládne výměny bez problému i personál bez laboratorní kvalifikace.

Tab 1. Srovnání vybraných parametrů sledovaných metod (4):

Parametr	Měřicí rozsah- DxI 600	Měřicí rozsah- AQT 90 Flex	Referenční rozmezí, resp.cut-off – DxI 600	Referenční rozmezí, resp.cut-off- AQT 90 Flex
Tro I (μ g/l)	0,01-100	0,010 - 50	0,04 (99 ptl.)	0,023 (99 ptl.)
CK-MB mass (μ g/l)	0,1 – 300	2 – 500	0,6 – 6,3 (pl - LiH) 0,5 – 5,0 (pl - EDTA)	7,2 (99 ptl.)
Myoglobin (μ g/l)	1 – 4000	20 – 900	F: 14,3 – 65,8 (pl -LiH) 11,1 – 57,5 (pl EDTA) M: 17,4 – 105,7 (pl - LiH) 15,2 – 91,2 (pl -EDTA)	23 – 112

Pro kontrolu kvality jsou k dispozici firmou dodávané kontrolní materiály na třech koncentračních hladinách. Trend výsledků QC je možné sledovat ve formě Levey-Jenningsových grafů, v nabídce je i aplikace Westgardových pravidel.

Výsledky

Měli jsme možnost si tento analyzátor v naší laboratoři vyzkoušet. K dispozici jsme měli soupravy na stanovení CK-MB, TnI a myoglobinu. Porovnávali jsme hod-

noty těchto parametrů stanovené v Li-Hep plasmě na imunochemickém analyzátoru DxI 600 firmy Beckman Coulter (chemiluminiscenční imunoanalýza na paramagnetických částicích, měřicí rozsah a hodnoty cut-off jsou uvedeny v tab.1.) a hodnoty stanovené u téhož vzorku na AQT 90 Flex v plné krvi. Před začátkem měření vzorku plné krve je možné na analyzátoru AQT 90 Flex zadat hodnotu hematokritu, popř. ponechat přednastavenou hodnotu 42 %. Základní statistika naměřených hodnot je uvedena v tab. 2.

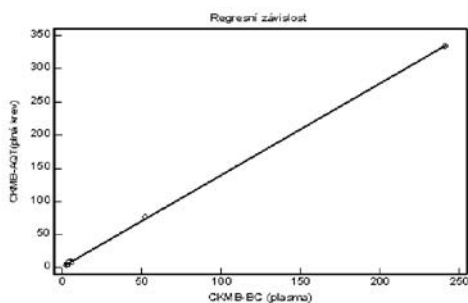
Tab 2. Základní statistika pro vzorky plné krve (AQT) a plazmy (DxI)

	TnI (µg/l)		CK-MB (µg/l)		Myoglobin (µg/l)	
	DxI 600	AQT 90 Flex	DxI 600	AQT 90 Flex	DxI 600	AQT 90 Flex
Počet měření	14	14	16	16	24	24
Maximální hodnota	72,63	19	241,8	335	410,3	737
Minimální hodnota	0,05	0,015	2,6	3,8*	14,6	24
Průměr	20,771	4,1526	39,825	56,225	91,65	171,667
Medián	0,58	0,068	4,5	7,7	41,85	82,5

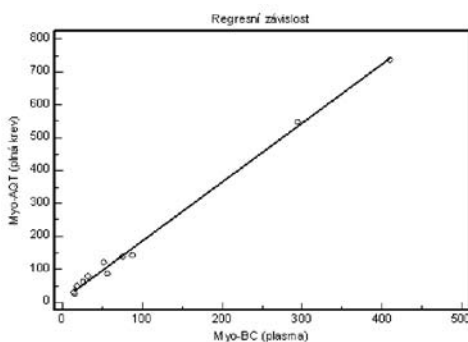
* hodnoty CKMB <2,0 µg/l byly vyloučeny

Rozložení hodnot je patrné z grafů 1-3.

Graf 1. Regresní závislost pro CK-MB (AQT 90 Flex – plná krev vs. DxI 600 – plasma)

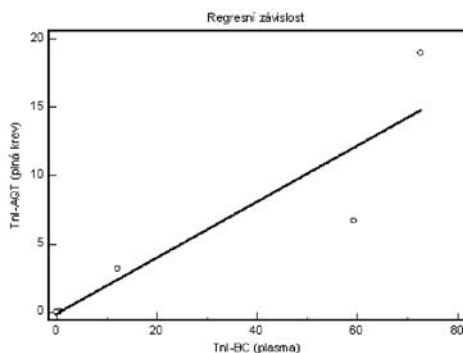


Graf 2. Regresní závislost pro Myoglobin (AQT 90 Flex – plná krev vs. DxI 600 – plasma)



Změřené hodnoty byly na první pohled numericky odlišné, testovali jsme tedy vazbu mezi nimi pomocí korelačního koeficientu. Stanovené hodnoty spolu úzce korelovaly, hodnoty korelačních koeficientů jsou uvedeny v tab. 3. V této tabulce jsou zároveň uvedeny parametry regresní přímky proložené změřenými body (graf 1-3).

Graf 3. Regresní závislost pro TnI (AQT 90 Flex – plná krev vs. DxI 600 – plasma)



Tab. 3 Korelační koeficienty a parametry regresní závislosti pro vzorky plná krev vs. plasma

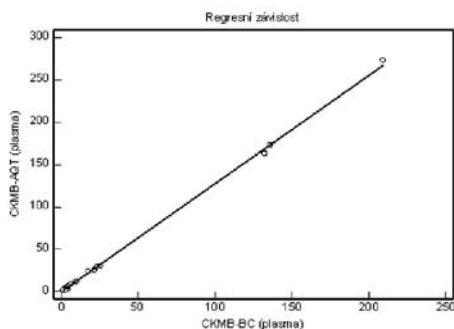
X= DxI 600(BC) Y= AQT	TnI	CK-MB	Myo
Počet vzorků	14	16	24
Slope	0,205	1,382	1,791
Intercept	-0,105	1,171	7,536
r	0,9171	0,999	0,998
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Přestože je analyzátor určen přednostně ke stanovení koncentrací jednotlivých analytů z primárních zkumavek s plnou krví, zkusili jsme ve druhé fázi porovnat hodnoty získané na obou analyzátorech ve vzorku plazmy. Pro statistické hodnocení byly ze souboru vyřazeny vzorky, u kterých došlo při měření k překročení měřicího rozsahu analyzátoru. Rozsah výsledných hodnot je uveden v tabulce 4. Parametry regresní závislosti a korelační koeficienty jsou uvedeny v tabulce 5.

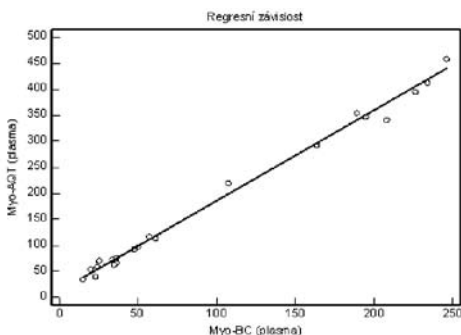
Tab 4. Základní statistika pro vzorky plasmy (AQT) vs. plasmy (DxI 600)

	TnI (µg/l)		CK-MB (µg/l)		Myoglobin (µg/l)	
	DxI 600	AQT 90 Flex	DxI 600	AQT 90 Flex	DxI 600	AQT 90 Flex
Počet vzorků	24	24	26	26	26	26
Maximální hodnota	78,48	16	208,8	274	246,3	458
Minimální hodnota	0,03	0,01	1,3	2	14,8	34
Průměr	9,956	2,347	34,85	44,258	92,627	173,69
Medián	2,9	0,875	5,35	7,5	48,7	94

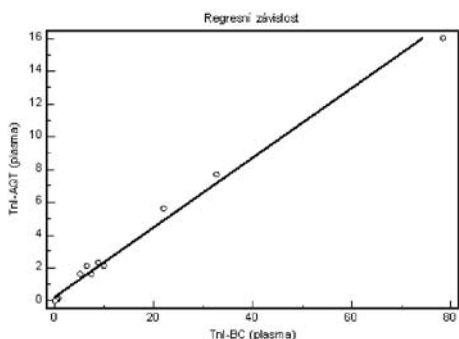
Graf 4. Regresní závislost pro CK-MB (AQT 90 Flex vs. DxI 600 – obojí plasma)



Graf 5. Regresní závislost pro Myoglobin (AQT 90 Flex vs. DxI 600 – obojí plasma)



Graf 6. Regresní závislost pro TnI (AQT 90 Flex vs. DxI 600 – obojí plasma)



Tab 5. Korelační koeficienty a parametry regresní závislosti pro vzorky plasma vs. plasma

X= DxI 600(BC) Y= AQT	TnI	CK-MB	Myo
Počet vzorků			
Slope	0,2124	1,28	1,736
Intercept	0,2316	-0,338	12,865
r	0,994	0,9995	0,997
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Diskuze:

Hodnoty kardiálních markerů (cTnI, CK-MB mass, myoglobinu) stanovené na uvedených analyzátoch spolu těsně korelují, ale jejich numerické hodnoty jsou zcela odlišné (směrnice regresní přímky se statisticky významně odlišuje od 1,0, úsek na ose Y se odlišuje od 0,0). Tato odlišnost hodnot je dána jen pozvolně zaváděnou standardizací při stanovení kardiálních markerů u jednotlivých výrobců. Při interpretaci výsledků je tedy nutné brát zřetel na původ hodnoty a k němu také vázat příslušná interpretační kritéria. Uvedené numerické rozdíly tak jednoznačně kladou zvýšené nároky ze strany lékařů při interpretaci výsledků a při sledování trendu uvedených analytů u hospitalizovaných pacientů.

Závěr:

Analýzátor AQT90Flex je analyzátor vhodný pro provozování v POCT režimu, poskytuje výsledky s krátkým časem, je bezúdržbový a zcela jednoduchý na obsluhu. Může se stát dobrým pomocníkem k diagnostice AIM na urgentních příjmech nemocnic nebo jiných klinických odděleních s požadavky na rychlou dobu odezvy stanovení srdečních markerů, případně některých dalších statimových testů.

Literatura:

1. Friedecký, B., Engliš, a kol.: Doporučení České společnosti klinické biochemie ke stanovení biochemických markerů poškození myokardu, ze dne 29. 11. 2007

2. Pudil R.: Kardiomarkery v klinické praxi – přednáška, XXVIII. Reg. prac. dny klinické biochemie, Karlova Studánka 2009
3. Manuál pro analyzátor AQT 90 Flex
4. Příbalové listy souprav firmy Radiometer a firmy Beckman Coulter