

Organizace provozu glykemické laboratoře OKB FN Olomouc

M. Kajabová

Glykemická laboratoř Oddělení klinické biochemie provádí tato vyšetření z plazmy žilní a kapilární krve:

- glykémie v žilní plazmě nalačno (FPG) jako nástroj diagnózy diabetes mellitus
- postprandiální glykémie
- glykemické profily kompletní i zkrácené ke sledování aktuální kompenzace onemocnění
- oGTT jako nástroj diagnózy diabetu u pacientů s FPG 5,6–7,0 mmol/l a nástroj diagnózy gestačního diabetu

Kromě glukózy se zde vyšetřuje glykovaný hemoglobin za účelem monitorování dlouhodobého stavu koncentrace glukózy v krvi. Glukóza v séru je analyzována na automatických biochemických analyzátoch Hitachi 917 a Modular SWA a slouží pouze jako orientační vyšetření hladiny glukózy.

Glykemická laboratoř pracuje v nepřetržitém provozu a za 24 hodin zpracuje 100–200 vzorků glykemií v plazmě. Pro srovnání – sérových glykemií vyšetří OKB denně 200–300. Nezanedbatelné množství glykemií je ve FN Olomouc vyšetřeno v režimu POCT. Glykovaný hemoglobin je stanovován pouze v pracovní dny a je změřeno asi 25 vzorků denně.

SENSOSTAR G

Od konce roku 2006 používáme pro stanovení glukózy analyzátor SensoStar G firmy DiaSys (obr. 1) (dodavatel BioVendor – Laboratorní medicína), který nahradil zastaralé, nicméně spolehlivé přístroje Beckman Glucose Analyzer 2. SensoStar G využívá oxidace glukózy za katalýzy glukózaoxidázou a následné ampérometrické detekce vzniklého peroxidu vodíku. Umožňuje měřit glukózu v plné krvi, plazmě, séru a mozkomíšním moku po zředění hemolyzačním systémovým roztokem v poměru 1:50.

Přístroj je vybaven karuselem, který má dvě pozice pro kalibrátor, tři pro kontrolní materiál, jednu pozici pro statimový vzorek a 60 pozic pro vzorky. Analýza probíhá z uzavřených mikrozkušavek (musí mít propichovatelné víčko) a trvá 45 s pro jednotlivý vzorek a 18 s pro vzorek v sérii. Kalibrace je automatická před každou sérií vzorků.

Výhody:

- Jednoduché ovládání přes dotykovou obrazovku

- Díky karuseli není nutná přítomnost obsluhy při měření
- Analyzátor umí číst barkódy a je možné jej připojit k LIS (těchto možností OKB nevyužívá)

Nevýhody:

- Je nutné ředění vzorku – to znamená časovou zátěž a možnost chyby při ředění
- Stabilita senzoru je mnohdy kratší než výrobcem deklarovaných 60 dní



Obrázek 1: Analyzátor glukózy SensoStar G

GLUKOMETER 3000

Tento analyzátor firmy ABT (dodavatel DOT diagnostics) je primárně určen pro POCT a na OKB FN Olomouc slouží jako záložní přístroj. Pracuje rovněž na enzymo-ampérometrickém principu a je určen pro analýzu plné krve, plazmy nebo séra bez ředění. Vzorek je do přístroje zaváděn pomocí kapiláry (množství vzorku 5 μ l) a analýza je velmi rychlá (10 s).

Výhody:

- jednoduchá obsluha bez nutnosti ředění vzorků

Nevýhody:

- méně vhodný pro větší série vzorků (např. glykemické profily)
- nemá tiskový výstup

PDQ PLUS

Analyzátor glykovaného hemoglobinu PDQ Plus (obr. 2) americké firmy Primus (dodavatel BioVendor) pracuje na principu vysokotlaké kapalinové afinitní chromatografie. Kolona obsahuje aminofenylboronát navázaný na porézní polymerní nosič. Boronát reaguje s cis-diolovými skupinami glykovaného hemoglobinu, zatímco neglykovaná složka je vymyta z kolony na spektrofotometrický detektor. Změnou pufru je pak glykovaná frakce vytěsněna z kolony. Výsledný chromatogram (viz obr. 3) pak obsahuje dva píky: neglykovaný a glykovaný hemoglobin.



Obrázek 2: Analyzátor glykovaného hemoglobinu PDQ Plus

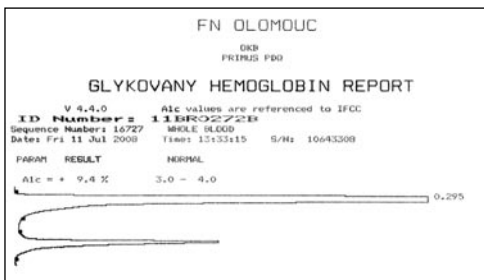
PDQ Plus může stanovovat HbA1c ze vzorků plné krve nebo hemolyzátu, který se připraví smícháním 20 µl krve a 2 ml dilučního roztoku. Mód hemolyzátu využíváme u pediatrických vzorků, kde nemáme k dispozici dostatečné množství krve (tj. 1,5 ml). K přístroji je připojen autosampler s karuselem na 30 vzorků. Karusel během analýzy rotuje a zajišťuje tak promíchání vzorků. Autosampler je vybaven čtečkou barkodů a akceptuje zkumavky o rozměru 13 x 75 mm s gumovým septem.

Analyzátor PDQ Plus byl na OKB nainstalován v březnu 2006. Během roku 2007 byly původní skleněné kolony nahrazeny takzvanými PEEK (polyether ether keton) kolonami a ještě v témže roce byla modifikována jejich náplň. Cílem této změny bylo zlepšení separace a zvýšení životnosti kolon z původních 3600 nástřiků až na maximálně 9000 nástřiků. Bohužel jsme na našem pracovišti zaznamenali snížení životnosti kolon (max. 1500 nástřiků). V květnu letošního roku došlo ke změnám v softwaru, které by měly zvýšit stabilitu kalibrace a životnost kolony. Efekt této změny zatím nelze hodnotit.

Výhody:

- stanovení bez interferencí

Obrázek 3: Chromatogram z analyzátoru PDQ Plus



- minimální manipulace se vzorkem: na primární zkumavku je pouze nalepen štítek s barkódem
- rychlost analýzy (2 min.)

DALŠÍ DIABETOLOGICKÁ VYŠETŘENÍ

Kromě základních vyšetření prováděných v glykemické laboratoři má OKB v nabídce další biochemické testy, které lze využít v péči o pacienta s diabetem. Jedná se zejména o vyšetření albuminu v moči (mikroalbuminurie) jako časného indikátoru diabetické nefropatie, vyšetření inzulínu a C-peptidu k posouzení endogenní sekrece inzulínu, a vyšetření protilátek proti dekarboxyláze kys. glutamové (anti-GAD) a protilátek proti IA-2 antigenu tyrosin-fosfatázy ostrůvkových buněk 512 (anti-IA-2) u autoimunitního diabetu mellitu. Přehled používaných vyšetření včetně metodiky, přístrojové techniky a hodnotících mezí je uveden v tabulce 1.

EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

Metody používané k diagnostice a monitorování diabetu mellitu jsou pravidelně kontrolovány v cyklech EHK firmy SEKK:

- Analyty krevního séra (AKS) – glukóza v séru, fotometrická metoda (Hitachi 917, Modular) – 3x ročně
- Stanovení glukózy (GLC) – ampérometrická metoda (Sensostar, Glukometer 3000) – 1x ročně
- Analyty moče (AM) – glukóza v moči – 2x ročně
- Analýza moče testovacími proužky (DGP) – glukóza a ketolátky v moči semikvant. - 2x ročně
- Stanovení albuminu v moči (ALB) – 2x ročně
- Kompenzace diabetu (KD) – HbA1c – 2x ročně
- Autoimunitní diabetes 1. typu (IDDM) – anti-GAD, anti-IA-2 – 1x ročně
- Endokrinologie 2 – inzulín – 2x ročně

U všech sledovaných parametrů jsme dosáhli v posledních 2 letech úspěšnosti 100 % s výjimkou inzulínu, kde byla úspěšnost 75 %. Problémy s úspěšností v cyklu Kompenzace diabetu vedly v roce 2006 k nahrazení imunochemické metody metodou afinitní kapalínové chromatografie. Tato změna vedla zároveň ke zlepšení opakovatelnosti a reprodukovatelnosti měření.

ZÁVĚR

OKB sleduje doporučení českých i cizích odborných společností a institucí, která se týkají laboratorní diagnostiky DM. V blízké budoucnosti nás čeká změna jednotek a diagnostických rozhodovacích mezí na základě doporučení IFCC, EASD, ADA

a IDF o měření a vydávání výsledků HbA1c. Všechny metodické a interpretační změny konzultujeme s diabetologickým centrem FN Olomouc.

Tabulka 1

Vyšetření	metoda	přístroj	hodnotící meze
Glukóza v plazmě, séru	GOD ampérometrie, GOD fotometrie	SensoStar G, Glukometer 3000, Hitachi 917, Modular	3-5,6 mmol/l
Glykovaný hemoglobin	boronátová afinitní HPLC	PDQ Plus	< 4,5 %
Glykovaný protein (fruktózamin)	fotometrie	Hitachi 917, Modular	< 285 µmol/l
Albumin v moči	imunoturbidimetrie	Hitachi 917, Modular	< 30 mg/24 h
			< 20 µg/min
<i>C-peptid</i>	LEIA	Immulite 2000	298–2350 pmol/l
Inzulín	LEIA	Immulite 2000	8–34,5 mIU/l*
Anti-GAD	IRMA (Immunotech)	Cobra 5005 II	< 1 kU/l
Anti-IA-2	IRMA (Immunotech)	Cobra 5005 II	< 1 kU/l

* - od 15 let věku