

# Stanovení glykovaného hemoglobinu na analyzátoru Capillarys 2 - Flex Piercing

Melounová, K., Dunovská K., Pospíšilová, R.

Cílem sdělení je porovnat výsledky stanovení glykovaného hemoglobinu ( $HbA_{1c}$ ) na analyzátoch TOSOH G8 a Capillarys 2 Flex Piercing se zřetelem na zavedení analyzátoru Capillarys 2 Flex Piercing jako náhrady za stávající analyzátor TOSOH G8 do rutinního laboratorního provozu.

Capillarys 2 - Flex Piercing je automatizovaný přístroj který využívá osm paralelně zapojených křemenných kapilár pro vícenásobnou elektroforetickou separaci s vysokou průchodností. Poskytuje plně automatizované provádění několika činností současně od počátečního nabrání vzorku z originální zkumavky až po závěrečný elektroforetický záznam. Automatizovaný postup zahrnuje tyto kroky: identifikace vzorku, zředění vzorku, promývání kapiláry, vstříkávání vzorku do kapilár, migrace, detekce, zpracování výsledků a přenos výsledků. Tímto způsobem lze stanovit různé parametry od krevních bílkovin přes CDT až po glykovaný hemoglobin ( $A_{1c}$ ). Přímá detekce hemoglobinů se provádí na katodovém konci kapiláry při 415 nm, což je absorpční vlnová délka specifická pro hemoglobiny. Za využití zásaditého tlumivého roztoku se normální a abnormální (variantní) hemoglobiny detekují v následujícím pořadí od katody k anodě:  $HbA_{2c}$ ,  $HbE$ ,  $HbS/D$ ,  $HbF$ ,  $HbA_0$  a  $HbA_{1c}$ .

Rozdíly mezi stávající a novou metodou jsou nejen ve vlastním principu stanovení, ale i v množství potřebného materiálu. Analyzátor TOSOH G8 umožňuje stanovit  $HbA_{1c}$  z 3  $\mu$ l plné krve. Zatímco pro analyzátor Capillarys 2 - Flex Piercing je minimální množství plné krve 20  $\mu$ l odebrané do speciálních odběrových zkumavek pro kapilární odběr. V rámci porovnání obou analytických systémů jsme se rozhodli provést srovnávací stanovení koncentrací glykovaného hemoglobinu v odběrových systémech, které jsou doporučovány pro oba testované analyzátoch, včetně specifického kapilárního odběru. Testovali jsme čtyři doporučované odběrové soupravy:

1. Vacuette (fialové víčko) s obsahem K3EDTA
2. Vacuette (šedé víčko) s obsahem Natrium Fluoride/K3EDTA
3. MiniCollect (šedé víčko) s obsahem Natrium Fluoride/Kalium Oxalate
4. Kapilární zkumavky s hemolyzačním roztokem, Sebia

## VÝSLEDKY TESTOVÁNÍ JEDNOTLIVÝCH ODBĚROVÝCH SOUPRAV

### 1. Vacuette (fialové víčko) s obsahem K3EDTA

Bylo analyzováno 52 patientských vzorků odebraných do zkumavek Vacuette (fialové víčko) s obsahem K3EDTA. Byla prokázána výborná shoda výsledků získaných na analyzátoch Tosoh G8 a Capillarys 2 Flex Piercing (viz graf 1).

### 2. Vacuette (šedé víčko) s obsahem Natrium Fluoride/ K3EDTA

Bylo analyzováno 27 patientských vzorků odebraných do zkumavek Vacuette (šedé víčko) s obsahem Natrium Fluoride/K3EDTA. Byla prokázána výborná shoda výsledků získaných na analyzátoch Tosoh G8 a Capillarys 2 Flex Piercing (viz graf 2).

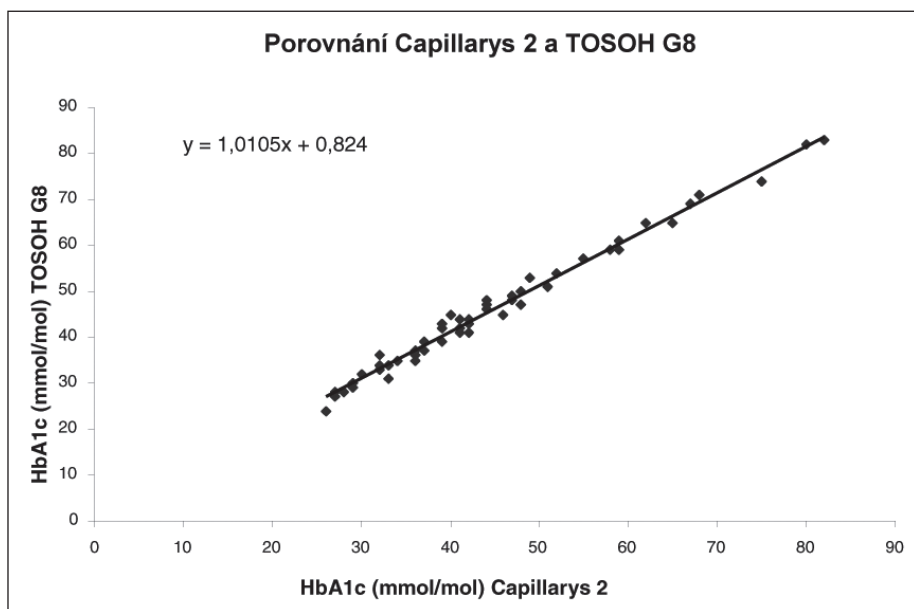
### 3. MiniCollect (šedé víčko) s obsahem Natrium Fluoride/ Kalium Oxalate

Bylo analyzováno sedm patientských vzorků odebraných do zkumavek MiniCollect (šedé víčko) s obsahem Natrium Fluoride/Kalium Oxalate. Byla prokázána výborná shoda výsledků získaných na analyzátoch Tosoh G8 a Capillarys 2 Flex Piercing (viz graf 3).

### 4. Sebia Kapilární zkumavky s hemolyzačním roztokem

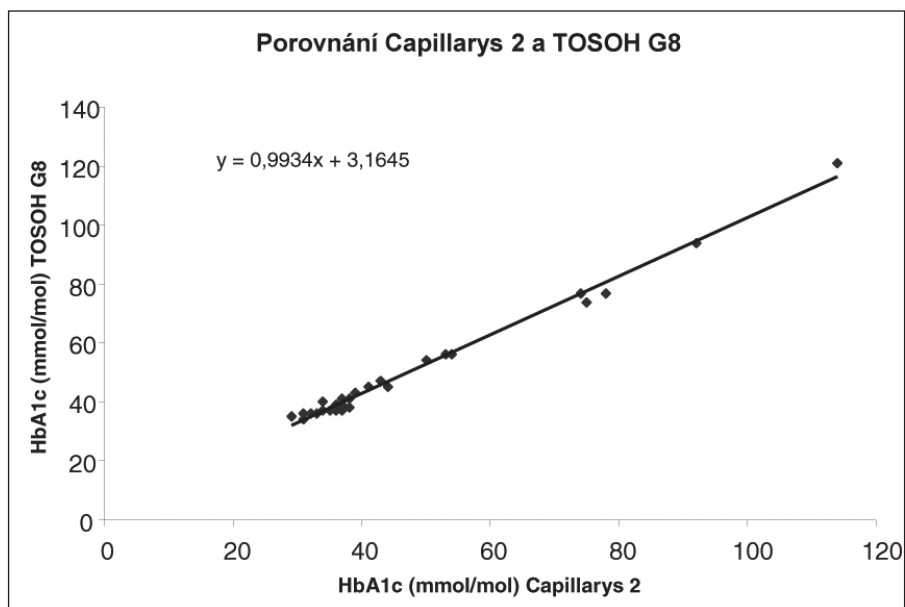
Pro srovnání kapilárního odběru (Sebia Kapilární zkumavky) a odběru do zkumavek Vacuette s obsahem K3EDTA) bylo změřeno 16 patientských vzorků. Byla prokázána výborná shoda výsledků získaných na analyzátoch Tosoh G8 a Capillarys 2 Flex Piercing (viz graf 4).

Dále jsme testovali, zda při nedodržení minimálního požadovaného množství kapilární krve (20  $\mu$ l) dochází k významnému ovlivnění výsledků. Porovnání bylo provedeno u dvou pacientů. U jednoho pacienta byla koncentrace  $HbA_{1c}$  v referenčním rozmezí (35 mmol/mol), u druhého pacienta byla koncentrace  $HbA_{1c}$  mimo referenční rozmezí (93 mmol/mol). Byly testovány výsledky při odebrání 5, 10 a 15  $\mu$ l kapilární krve a byly porovnávány s výsledky získanými při odběru 20 - 40  $\mu$ l kapilární krve (viz tabulka 3 a, b).



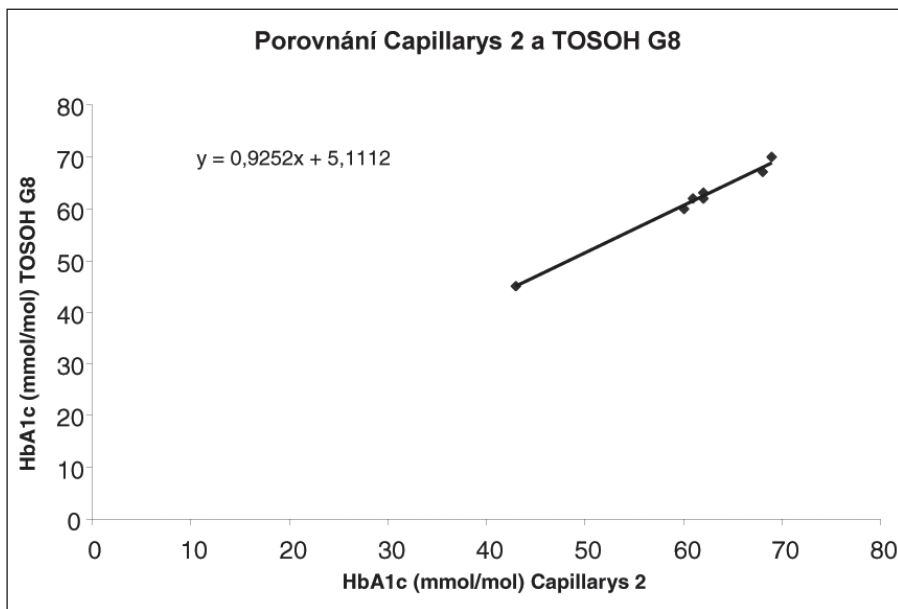
**Graf 1:** Porovnání hodnot  $HbA_{1c}$  ze zkumavek Vacuette (fialové víčko) s obsahem K3EDTA na analyzátoch TOSOH G8 a Capillarys 2 – Flex Piercing.

koeficient determinace ( $r^2$ )	0,9865
korelační koeficient ( $r$ )	0,9932



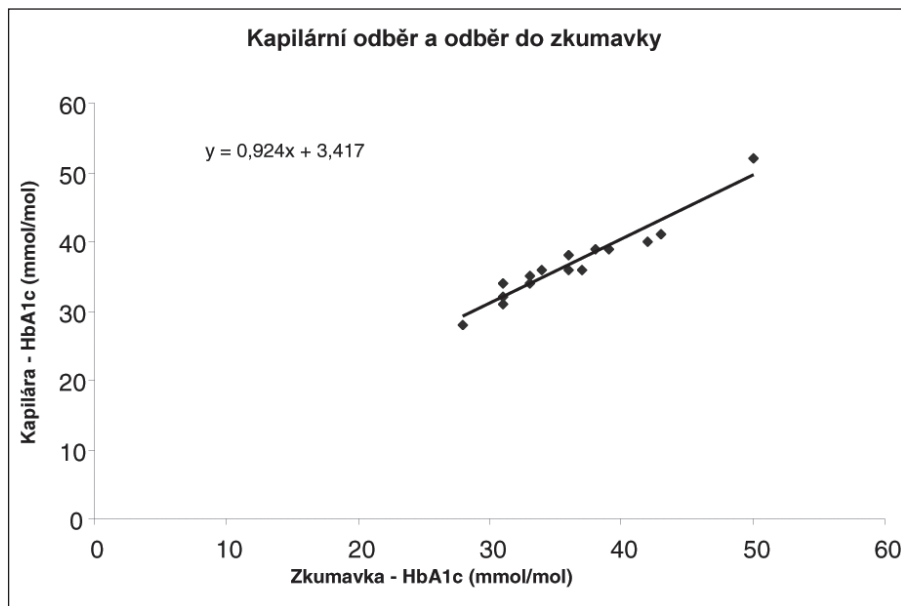
**Graf 2:** Porovnání hodnot  $HbA_{1c}$  ze zkumavek Vacuette (šedé víčko) s obsahem Natrium Fluoride/K3EDTA na analyzátoch TOSOH G8 a Capillarys 2 – Flex Piercing.

koeficient determinace ( $r^2$ )	0,9910
korelační koeficient ( $r$ )	0,9955



**Graf 3:** Porovnání hodnot  $HbA_{1c}$  ze zkumavek MiniCollect (šedé víčko) s obsahem Natrium Fluoride/ Kalium Oxalate na analyzátorech TOSOH G8 a Capillarys 2 – Flex Piercing.

koeficient determinace ( $r^2$ )	0,9914
korelační koeficient ( $r$ )	0,9957



**Graf 4:** Porovnání hodnot  $HbA_{1c}$  ze zkumavek Vacuette (fialové víčko) s obsahem K3EDTA a kapilárních zkumavek s hemolyzačním roztokem na analyzátoru Capillarys 2 – Flex Piercing.

koeficient determinace ( $r^2$ )	0,9281
korelační koeficient ( $r$ )	0,9634

**Tabulka 3 a,b: Porovnání koncentrací HbA<sub>1c</sub> při různém množství odebrané kapilární krve**

Pacient 1		koncentrace (mmol/mol)
Capillars 2	plná krev	35
	5 µl	33
	10 µl	35
	15 µl	33
	20 µl	34
	25 µl	35
	30 µl	33
	40 µl	34
	kapilára (20 µl)	33
	<b>TOSOH G8</b>	
Průměr (Capillars 2)		33,89
SD (Capillars 2)		0,928

Pacient 2		koncentrace (mmol/mol)
Capillars 2	plná krev	89
	5 µl	86
	10 µl	89
	15 µl	89
	20 µl	90
	25 µl	91
	30 µl	94
	40 µl	94
	kapilára (20 µl)	90
	<b>TOSOH G8</b>	
Průměr (Capillars 2)		90,38
SD (Capillars 2)		2,669

## ZÁVĚR

Na základě výše uvedených výsledků testování lze potvrdit shodu hodnot HbA<sub>1c</sub> naměřených na analyzátoch Capillars 2 a TOSOH G8, a to ve všech odběrových systémech. Lze tedy bez výrazných změn přejít ve stanovování glykovaného hemoglobinu z principu metody HPLC na analyzátoru TOSOH G8 k principu kapilární elektroforézy na analyzátoru Capillars 2 - Flex Piercing. Zároveň je možné

využívat i kapilární odběr do speciálních zkumavek s hemolyzačním roztokem, protože nedochází při nepřesném množství krve k ovlivnění výsledků.

## POUŽITÁ LITERATURA:

Návod k obsluze Capillars 2 – Flex Piercing, verze 8.51, 2012/06, Sebia, pp. 193.

Návod k použití Capillars Hb A<sub>1c</sub>, 2014/11, Sebia, pp. 19.