

Glukometrie II - POCT

Doc. MUDr. Petr Schneiderka, CSc.

**Tvorba a ověření e-learningového prostředí pro integraci
výuky preklinických a klinických předmětů na LF UP a
FZV UP v Olomouci**

Reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/15.0313

Úvod

- Stanovení glukózy v režimu point-of-care (POCT) se provádí pomocí samostatných přenosných glukometrů, které využívají testovací proužky s fotometrickou nebo elektrochemickou detekcí.
- Konstrukce takových glukometrů a způsob a způsob jejich použití se liší podle toho, zda je glukometr určen pro:
 - Sebekontrolu pacienta (self monitoring, domácí použití) ,
 - Nebo pro řízenou glukometrii (profesionální použití, viz dále).

Termín POCT

- Provádění určitých měření nebo „testů“ *in vitro* v mimolaboratorních podmínkách se nazývá point-of-care testing, near patient testing, beside testing, off-site testing, apod.
- Pravděpodobně nejvíce používaný je termín point-of-care testing, ve zkratce POCT. Česká technická norma ČSN EN ISO 22870:2006 zavedla termín „vyšetření pacienta“, VUP.
- Tato norma definuje VUP jako „vyšetření, které se provádí v blízkosti pacienta, nebo přímo u pacienta, s výsledkem vedoucím k možné změně péče o pacienta.“

Vyšetření

- Místem péče o nemocného může být:
 - zdravotnické zařízení (lůžkové oddělení nemocnice, ambulance, samostatná ordinace),
 - domov, škola, sportoviště, místo zásahu záchranářů a policie nebo válečné pole, apod.
- V současnosti se připouští, že osobou provádějící POCT nemusí být výhradně zdravotnický pracovník, a že pod termín POCT lze zahrnout také sebekontrolu pacientů.
 - S prostředky a zařízeními pro POCT pracují většinou osoby, které nejsou primárně vzdělávány a kvalifikovány pro laboratorní práci.
- Tomuto faktu bývá přizpůsoben reakční princip, pracovní postup, celkové technické řešení a design přístroje.

Výsledky vyšetření

- Výsledky získané pomocí POCT jsou mnohdy podkladem závažných rozhodnutí v odborné nebo i laické zdravotní péči.
- Odbornou i laickou veřejností bývají chápány jako rovnocenné výsledkům *in vitro* měření v laboratoři.
- Přitom ale mnohé prostředky POCT nejsou dostatečně a spolehlivě prověřeny a dokumentovány z hlediska základních analytických znaků použité metody měření.

POC Technologie

- V uplynulých 10 letech se ve světě výrazně rozšířilo spektrum komerčně nabízených POC technologií a také v našich podmínkách se jejich počet a využití neustále zvyšuje.
- Zároveň se objevily nové mezinárodní normativní a jiné dokumenty regulující jejich nasazení a správné používání.
- Systematický přehled požadavků na správné zavádění a používání POCT uvádí Doporučení České společnosti klinické biochemie ČLS JEP "Správné zavádění a používání prostředků POCT" z r. 2011.
 - Jeho cílem je předložit všeobecně přijatelný algoritmus zavádění a používání prostředků POCT tak, aby poskytovaly spolehlivé výsledky, které jsou nutným předpokladem kvalifikované péče o zdraví člověka.

Principy detekce

- Současné metody pro POC glukometrii jsou založeny na enzymové oxidaci glukózy.
 - Nejvíce se používají enzymy ze skupiny glukózaoxidáz (GOD) a glukózadehydrogenáz pyrrolochinolin-chinonovým koenzymem (PQQ-GDH).
- Peroxid vodíku jako produkt glukózaoxidázové reakce je možné využít k oxidaci leukobarviva za katalýzy enzymem peroxidázou a barevný produkt stanovit **fotometricky**.
 - Častou aplikací je oxidační kopulace 4-aminoantipyrinu s aromatickým aminem nebo substituovaným fenolem.

Fotometrická detekce

- Dalšími chromogenními akceptory mohou být:
 - o-tolidin,
 - indofenol,
 - o-dianisidin a jiné.
- Fotometrickou detekci lze využít i u glukózadehydrogenázových proužků.
- V tomto případě jsou elektrony z enzymové reakce přeneseny prostřednictvím mediátoru na redoxní indikátor.
 - Např. proužky Accu-Chek (Roche) používají jako mediátor systém chinonimin/fenylendiamin a jako indikátor kyselinu fosfomolybdenovou.

Elektrochemická detekce

- První proužky s ampérometrickou detekcí byly uvedeny na trh v roce 1987 a dnes **elektrochemickou** detekci používá naprostá většina přenosných glukometrů.

Převažuje ampérometrie, méně se používá coulometrie.

- Výhodou elektrochemických principů je
 - vyšší přesnost (na rozdíl od fotometrie výsledek nezávisí na velikosti kapky krve),
 - potřeba menšího množství krve,
 - eliminace rizika znečištění měřicí jednotky.
- Elektrochemické proužky mohou být snáze integrovány s detektory náplně, čímž je zajištěna aplikace přiměřeného množství krve na proužek.

Elektrochemická detekce

- Současné proužky ke stanovení glukózy používají **elektrochemickou** detekci založenou na oxidaci redukováného koenzymu.
- Přenos elektronů na elektrodu je zprostředkován mediátorem.
 - Mediátor je malá molekula schopná existovat v oxidované i redukované formě s redox potenciálem blízkým redox potenciálu koenzymu.
 - Mediátor by měl být stabilní a rozpustný ve vodě.

Mediátory

- Používají se mediátory:
 - organické (chinony, chinoidní barviva, deriváty bipyridylu, dihydropolyaziny),
 - anorganické $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$,
 - a organokovové (deriváty ferrocenu a komplexy $\text{Os}^{2+/3+}$ nebo $\text{Ru}^{2+/3+}$).
- Nevýhodou použití mediátorů je nižší selektivita, neboť mediátor může přenášet na elektrodu i elektrony z interferujících reakcí.

Testovací proužky

- Vlastní reakce probíhá u přenosných glukometrů na testovacím (detekčním, diagnostickém, reagenčním) proužku na jedno použití. Přenosné glukometry využívají testovací proužky založené většinou na elektrochemickém, méně často na fotometrickém principu.
- Přenosné glukometry využívají detekční proužky, založené většinou na elektrochemickém, méně často na fotometrickém principu.

Elektrochemické proužky

- Moderní komerční **elektrochemický proužek** má elektrochemickou komůrku o malém objemu, která se plní pomocí kapilárních sil a obsahuje stabilní enzym a oxidačně-redukční mediátor.
 - Elektrochemický proužek je rychlý (5 – 15 s reakční doby) a vyžaduje malý objem krve (0,3 – 4,0 μ l).
 - Komerčně dostupné proužky mohou mít řadu dodatečných funkcí, jako jsou:
 - automatická detekce naplnění,
 - možnost plnit proužek více kapkami krve během určitého časového úseku, nebo
 - integrovaná korekce na hematokrit.

Elektrochemické proužky

- Elektrochemické proužky jsou tvořeny:
 - plastovou podložkou,
 - alespoň dvěma elektrodami,
 - komůrkou o malém objemu,
 - a chemickými složkami:
 - zejména enzymem,
 - stabilizátory enzymu,
 - mediátorem
 - a dále povrchově aktivními látkami (k minimalizaci času potřebného k naplnění komůrky).

Elektrochemické proužky

- Konstrukce proužku se může výrazně lišit počtem a typem elektrod. Je možné použít:
 - dvě identické elektrody za účelem biampérometrického měření,
 - nebo elektrodu pracovní a elektrodu referenční,
 - nebo tříelektrodové zapojení, obsahující navíc pomocnou elektrodu.
- Další elektrody mohou být přidány za účelem detekce naplnění komůrky nebo kompenzace hematokritu.
- Pracovní elektroda je nejčastěji vyrobena sítotiskem uhlíkového inkoustu, tvořeného směsí uhlíkových částic a polyesterového pojiva, nebo vakuovým napařováním zlata či paladia.

Elektrochemické proužky

- Jako referenční elektroda se používá elektroda argentchloridová nebo inertní vodič.
 - Argentchloridová elektroda se vyrábí sítotiskem inkoustu obsahujícího částice stříbra a AgCl v polyesterovém pojivu.
 - Referenční elektroda z inertního kovu se vyrábí zpravidla ze stejného materiálu jako pracovní elektroda.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- Uživatelé preferují u přenosných glukometrů:
 - jednoduché intuitivní ovládání,
 - krátkou dobu analýzy,
 - co nejmenší objem krve,
 - možnost použití arteriální, kapilární nebo žilní krve či odběr z alternativních míst,
 - co nejjednodušší údržbu.
- Tyto požadavky většina moderních glukometrů splňuje.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- Objem požadované krve se pohybuje od desetin mikrolitru ($0,1 \mu\text{l} = 10^{-4} \text{ ml}$) do několika mikrolitrů.
- Analýza u většiny glukometrů trvá méně než 20 s.
- Údržba spočívá zpravidla pouze v očištění a dezinfekci glukometru, dobíjení baterie a aktualizaci údajů o šarži proužků, případně kontrolních materiálů.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- Glukometry pro profesionální POCT musí splňovat další technické požadavky:
 - zajištění validity výsledků,
 - zabezpečení dat,
 - registraci údajů o analýze,
 - a připojení k laboratornímu a nemocničnímu informačnímu systému (LIS/NIS).
- To vede v konečném důsledku ke snížení rizika chyby a pravděpodobnosti poškození pacienta.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- Elektronický přenos dat do laboratorního a nemocničního informačního systému je nástrojem mimořádné důležitosti z hlediska redukce počtu chyb zejména v postanalytické fázi vyšetření.
- Z toho vyplývá, že **glukometry pro profesionální POCT se liší od osobních glukometrů** hardwarovou i softwarovou výbavou.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- K hardwarové výbavě glukometrů pro profesionální použití patří:
 - Integrovaná čtečka čárového kódu pro snímání identifikace operátora, pacienta, informací o šaržích kontrolních materiálů aj.,
 - a koncová stanice sloužící pro obousměrnou komunikaci se softwarem pro správu dat a ke spojení s LIS/NIS.
- Koncová stanice zároveň slouží k dobíjení baterie v glukometru.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- Softwarové odlišnosti profesionálních glukometrů spočívají v možnosti:
 - nastavení jednoznačné identifikace operátora a pacienta,
 - zabezpečení dat,
 - validity výsledků atd.
- Software umožňuje identifikaci operátora manuálním vstupem nebo skenováním čárového kódu.
- K uživatelskému jménu může být vyžadováno heslo.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- Operátorům lze přiřadit různou úroveň přístupových práv. Nejvyšší přístupová práva má supervizor POCT, který může některá nastavení glukometrů provádět centrálně prostřednictvím softwaru pro správu dat.
- Identifikace pacienta může být vkládána manuálně, snímáním čárového kódu, nebo výběrem pacienta ze seznamu elektronicky staženého do glukometru.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- Lze nastavit rovněž interval provádění vnitřní kontroly kvality měření glukometru, a to s novým balením proužků, v určitém časovém intervalu, nebo po určitém počtu analýz.
- Důležitou vlastností je možnost zamknutí glukometru, není-li provedeno plánované kontrolní měření, nebo je-li hodnota výsledku kontroly mimo definovaný rozsah.
- Užitečnou vlastností softwaru je možnost vkladu komentáře k výsledku měření ve formě předem naprogramovaného nebo volného textu.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- Přenosné glukometry se nesmí používat u pacientů:
 - s poruchami periferního oběhu (dehydratace, hyperglykemicko-hyperosmolární stav, hypotenze, šok),
 - s kyslíkovou terapií,
 - s léčbou vysokými dávkami redukujících látek,
 - u dialyzovaných pacientů, novorozenců a pacientů s výraznou hyperlipidemií.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- Pacienti na inzulinové pumpě nebo s rychlými změnami potřeby inzulinu musí mít stanovení glukózy provedeno v laboratoři.
- Všechny hodnoty nad 15 mmol/l a pod 3 mmol/l musí být ověřeny v klinické laboratoři.

Vlastnosti přenosných glukometrů

- Glukometry se musí pravidelně kontrolovat vzhledem ke stanovení glukózy v příslušné laboratoři (podle frekvence použití, nejméně však jednou ročně).
- Povolená odchylka hodnoty naměřené glukometrem (v krvi) od hodnoty naměřené v laboratoři (v žilní plazmě) při koncentracích $\geq 5,6$ mmol/l může být maximálně do 15 %.
- Při koncentracích pod 5,6 mmol/l musí být odchylka menší než 0,8 mmol/l.



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Videosekvence „Glukometrie II – POCT“

- Žádanka na vyšetření glykémie v režimu POCT je stejná jako na běžné vyšetření glykémie v laboratoři.
- Profesionální (řízená) POC-glukometrie je demonstrována s použitím glukometru Accu-Chek Inform (Roche).
- Tento přístroj využívá enzymové systémy glukózaoxidázy a PQQ-glukózadehydrogenázy s elektrochemickou detekcí. Glukometr je vybaven veškerými technickými přednostmi profesionálních glukometrů a umožňuje propojení více přístrojů do sítě, jejich vzdálenou správu a komunikaci s laboratorním a nemocničním informačním systémem LIS/NIS.

Videosekvence „Glukometrie II – POCT“

- Glukometry se dodávají v kazetě spolu s nabíjecím zařízením, kalibračními roztoky a jedním balením testovacích proužků.
- Na robustním těle přístroje vyniká rozměrný dotykový displej. Na horní straně je štěrba pro vložení testovacího proužku a vzadu nahoře je vstup pro čipovou kartu. Na horním okraji je také umístěna čtečka čárového kódu.

Videosekvence „Glukometrie II – POCT“

- Práce s přístrojem začíná identifikací operátora, identifikací šarže reagenčních proužků a kalibrací.
- Specifikace dvou kalibračních roztoků se přenášejí pomocí čárových kódů nebo prostřednictvím displeje a jsou uložena do databáze glukometru.
- Měření se provedou tak, že do štěrbin na horní straně glukometru se vždy zasune reagenční proužek a z lahvičky se na něj aplikuje kapka příslušného kalibračního roztoku.

Videosekvence „Glukometrie II – POCT“

- Následuje identifikace pacienta vložním jeho jména nebo číselného kódu přes dotykový displej, nebo prostřednictvím čtečky barkódu.
- Vzorek kapilární krve pacienta se získá vpichem lancety ve speciálním nastavitelném vystřelovacím „péru“ do bříška prstu. První kapka se setře tamponem a teprve druhá kapka kapilární krve se přenesse přímo z prstu na reagenční proužek.

Videosekvence „Glukometrie II – POCT“

- Vzorek kapilární krve pacienta se získá vpichem lancety v nastavitelném vystřelovacím „péru“ do bříška prstu. Následuje přenos kapilární krve přímo na reagenční proužek.
- Výsledek měření glukóz v mmol/l se po několika sekundách zobrazí na displeji. Určitý počet výsledků se průběžně ukládá do paměti glukometru.
- V běžné praxi se výsledky odesílají do LIS a NIS. Touto cestou se dostanou k rukám požadujícího lékaře, který je založí do dokumentace pacienta.

Doporučená literatura

- **Doporučení ČSKB ČLS JEP** „Správné zavádění a používání prostředků POCT“. 19.4.2011. Dostupné na www.cskb.cz.
- **ČSN EN ISO 22870:2006**. Vyšetření u pacienta (VUP) – Požadavky na kvalitu a způsobilost.
- **Chromý V. a kol.:** Bioanalytika. Učební text PŘF MU Brno, 2.vydání 2011
- **ČSN EN ISO 15189:2007** Zdravotnické laboratoře - Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost.
- **Štern P. a kol.:** Obecná a klinická biochemie pro bakalářské obory studia. Karolinum, Nakl. UK Praha, 2011. ISBN 978-80246-1979-8

Doporučená literatura

- **Další zdroje:**

- <http://www.pointofcare.net>
- <http://www.clsi.org>
- <http://www.eqa.cz/terminologie>