

P. Schneiderka, Ústav patologické fyziologie LFUP a OKB FN Olomouc

## Glukometrie II – POCT

### 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 jejich použití se liší podle toho, zda je glukometr určen pro sebekontrolu pacienta (selfmonitoring, domácí použití) nebo pro řízenou glukometrii (profesionální použití). V tomto případě popisujeme profesionální použití, kdy glukometrii provádí pomocí speciálního glukometru nelaboratorní zdravotnický pracovník.

### Termín POCT

Provádění určitých měření nebo „testů“ *in vitro* v mimolaboratorních podmínkách se nazývá point-of-care testing, near patient testing, bedside testing, off-site testing, apod. Pravděpodobně nejvíce používaný je termín point-of-care testing, ve zkratce POCT. Do češtiny se většinou nepřekládá, pouze česká technická norma ČSN EN ISO 22870:2006 zavedla termín „vyšetření u 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“. Norma navazuje na ČSN EN ISO 15189:2007, která se problematikou POCT výslovně nezabývá.

Místem péče o nemocného může být zdravotnické zařízení (lůžkové oddělení nemocnice, ambulance, samostatná ordinace), ale třeba i 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 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.

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 (to znamená pravdivé a precizní) 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 glukózooxidáz (GOD) a glukózadehydrogenáz s pyrrolochinolin-chinonovým koenzymem (PQQ-GDH). Peroxid vodíku jako produkt glukózooxidázové 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.

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.

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

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. Měl by být stabilní a rozpustný ve vodě.

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. Moderní komerční **elektrochemický proužek** má elektrochemickou komůrku o malém objemu, která se plní pomocí kapilárních sil a obsahuje stabilní enzym a oxidačně-redukční mediátor. Je rychlý (doba reakce 5 – 15 s) a vyžaduje malý objem krve (0,3 – 4,0  $\mu\text{l}$ ). Komerčně dostupné proužky mohou mít řadu dodatečných funkcí, jako je automatická detekce naplnění, možnost plnit proužek více kapkami krve během určitého časového úseku, nebo integrovanou korekci na hematokrit.

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).

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.

Jako referenční elektroda se používá elektroda argentchloridová nebo inertní vodič. Argentchloridová elektroda se vyrábí sítotiskem inkoustu obsahujícího částice stříbra a  $\text{AgCl}$  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, a rovněž co nejjednodušší údržbu. Tyto požadavky většina moderních glukometrů splňuje.

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.

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. 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.

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.

Softwarové odlišnosti 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.

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.

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.

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

Glukometry se musí pravidelně kontrolovat vzhledem ke stanovení glukózy v příslušné laboratoři (podle frekvence použití, nejméně však jednou ročně). Povolena 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.

## **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).

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 štěrbinová vložka pro vkládání testovacího proužku a vzadu nahoře je vstup pro čipovou kartičku. Na horním okraji je také umístěna čtečka čárového kódu.

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 štěrbinové vložky na horní straně glukometru se vždy zasune reagenční proužek a z lahvičky se na něj aplikuje kapka příslušného kalibračního roztoku.

Následuje identifikace pacienta vložení 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 přenese přímo z prstu na reagenční proužek.

Výsledek měření glukózy 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**

**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.

**Doporučení ČSKB ČLS JEP** „Správné zavádění a používání prostředků POCT“. 19. 4. 2011.  
Dostupné na [www.cskb.cz](http://www.cskb.cz).

**Štern P. a kol.:** Obecná a klinická biochemie pro bakalářské obory studia. Karolinum, nakl. UK Praha, 2011. ISBN 978-80246-1979-8

### **Další zdroje:**

<http://www.pointofcare.net>

<http://www.clsi.org>

<http://www.eqa.cz/terminologie>