

Dopis redakci

Stabilizace glukózy v krevní plazmě citrátem – pro a proti

Racek J., Fialová K., Rajdl D., Ženková J.

V č. 4 ročníku 25 (2017) časopisu *Klinická biochemie a metabolismus* v dopisu redakci stručně a jasně popisují Friedecký a spol. problematiku stabilizace koncentrace glukózy ve vzorku krve a následné problémy, které se objevují po jejím zlepšení [1]. Ve stručnosti: dosud běžně užívaný způsob konzervace fluoridem je nedostatečný, protože fluorid inhibuje až předposlední enzym glykolýzy, enolázu, a jeho efekt se tedy projeví až po několika hodinách. Nabízí se několik možností zlepšení stabilizace koncentrace glukózy v odebrané krvi: odebranou krev ihned vložit to ledové tříště a oddělit plazmu do 30 minut po odběru nebo užít k odběru zkumavky, kde kromě fluoridu sodného je i citrát, který acidifikací inhibuje počáteční reakce glykolýzy [2]. Doporučení ČSKB uvádí tři možnosti: a) uložení odebraných vzorků do ledové tříště; b) použití antiglykolytického přípravku; c) oddělení plazmy od krevních elementů do 30 minut od odběru [3].

Podobné zkušenosti mají všechny laboratoře, včetně naší. Z grafů na obrázku 1 je patrné, že jediné včasné oddělení plazmy nebo inhibice směsí fluoridu a citrátu udrží stabilní hladinu glukózy v krvi. Zchlazení vzorku nestačí (vzorek v lednici byl uchováván při 4 °C a přesto glykémie klesala). Ledová tříšť by jistě byla účinnější, její užití je však nepraktické. Stejně nepraktická je včasná separace plazmy – v ordinacích diabetologa, praktického lékaře či gynekologa není k dispozici centrifuga.

Zbývá tedy jediná možnost – odběr do směsi fluoridu a citrátu. Příslušné odběrové nádoby jsou k dispozici a nabízí je řada firem; patří sem např. VACUETTE® FC Mix Tube (Greiner), Venosafe FC Mixture (Terumo) či S-Monovette® GlucoEXACT (Sarstedt).

Autoři dopisu citují řadu prací, které prokázaly významné zvýšení počtu diagnostikovaných diabetiků při užití fluoridu s citrátem ke konzervaci krve ve srovnání s pouhým fluoridem. Objevuje se termín „misclassification of patients“ [4] či požadavek na stanovení nových diagnostických kritérií [5]. Otázkou je, zda to bude třeba. Starší lékaři i analytici si jistě pamatují dobu, kde rozhodovacím limitem pro diagnostiku diabetu byla koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno 7,8 mmol/l; ten byl snížen na dnešních 7 mmol/l s cílem zachytit nemocné dříve, včas je začít léčit a předcházet tak závažným komplikacím diabetu [6]. I ti mladší si pamatují snížení limitu pro diagnostiku gestačního diabetu pomocí glykémie nalačno z 5,6 mmol/l na současných 5,1 mmol/l [3]. Riziko diabetu totiž neroste skokem, ale plynule. Diagnostické kritérium je dáno dohodou – s cílem diagnostikovat diabetes mellitus včas u takového množství osob, které jsme schopni dispenzarizovat a léčit.

Ještě zmíníme jeden z problémů užití odběrových nádobek s fluoridem a citrátem. Dosud užívané zkumavky s fluoridem sodným se užívaly nejen pro stanovení glykémie, ale i pro stanovení laktátu: i zde je třeba

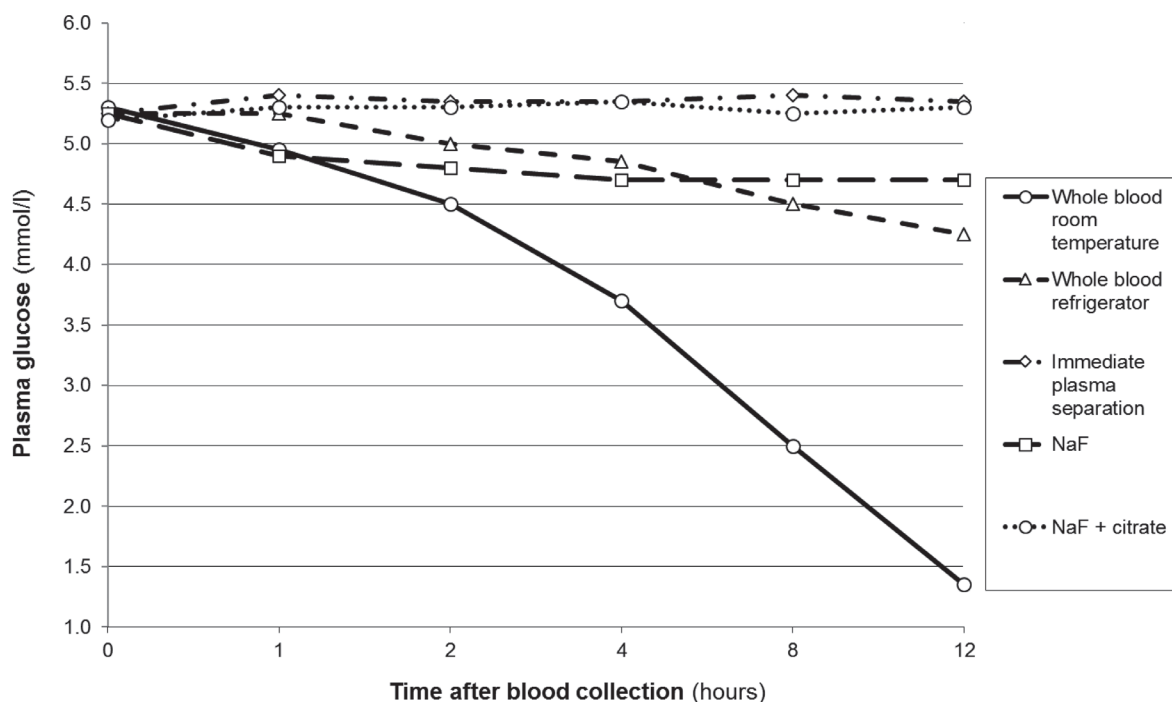


Fig. 1. Glucose concentration in venous blood stored under different conditions.

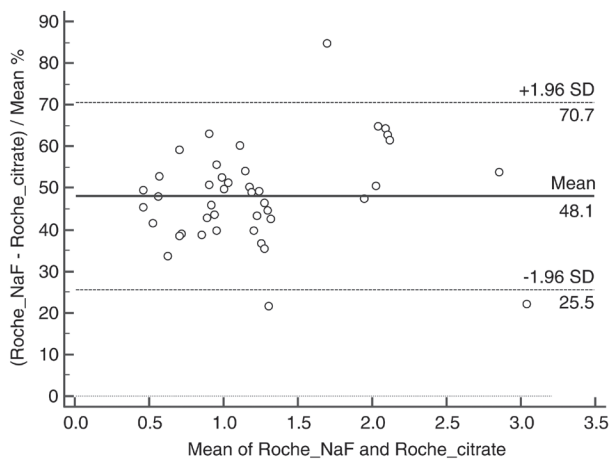


Fig. 2. Comparison of lactate concentration in NaF and NaF/citrate tubes measured with lactate oxidase method (Roche). On the x axis, mean of measurements in NaF and NaF/citrate tubes; on the y axis, pairwise differences between tubes expressed as percentage of the mean.

potlačit glykolýzu, neboť laktát je její konečný metabolit v anaerobních podmínkách. V tomto případě je užití samotného fluoridu dostatečné, k inhibici dochází dvě reakce před vznikem laktátu. Teoreticky by se tedy zdálo, že odběrové nádoby se směsí fluoridu a citrátu budou vhodné i pro stanovení laktátu. Opak je však pravdou: koncentrace laktátu v tomto případě vychází falešně snížená, a to v průměru o téměř 50%! To jsme prokázali v experimentu, kde jsme vzorky žilní krve od pacientů ($n = 42$) nabrali do zkumavky s NaF (VACUETTE® FE Sodium Fluoride/ K3EDTA) a se směsí citrátu a NaF (VACUETTE® FC Mix Tube, Greiner); ve vzorcích plazmy jsme pak stanovili laktát dvěma různými enzymatickými metodami na různých analytických systémech (Roche, Cobas 8000 chemický modul c702, setem firmy Roche s laktát oxidázou; Beckman Coulter, analyzátoru AU 640, setem firmy Dialab s enzymem laktátdehydrogenázou). Porovnání výsledků z obou zkumavek a mezi oběma metodami je na obrázcích 2 a 3. Podobně je ovlivněno i měření na analyzátoru krevních plynů (Radiometer, ABL 835 Flex), kde je laktátová elektroda s imobilizovanou laktát oxidázou a ampérometrická koncovka. Vzhledem k významnému poklesu pH ve zkumavkách s citrátem (orientačně 5,7) jsme předpokládali, že v reakční směsi obou srovnávaných enzymatických metod může být narušeno optimální reakční pH a dochází k falešně sníženým výsledkům. Nicméně v experimentu jsme potvrdili, že pH v reakční směsi setu Roche s laktát oxidázou je u vzorku ze zkumavky s NaF i citrátem srovnatelné (7,90 resp. 7,91, měřeno pH metrem firmy Regon Instruments WTW 537). Vysvětlení falešně snížených hodnot naměřených ve zkumavkách s citrátem je tedy nutné hledat jinde.

Praktickým závěrem z našeho experimentu je, že zkumavka se směsí NaF a citrátu je použitelná jen pro měření glykémie, pro případné stanovení laktátu je nutné odebrat další zkumavku pouze s NaF.

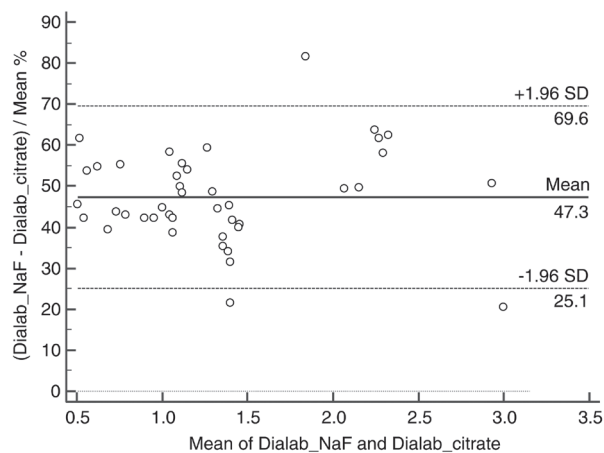


Fig. 3. Comparison of lactate concentration in NaF and NaF/citrate tubes measured with lactate dehydrogenase method (Dialab). Parameters on both axes as in Fig. 2.

Literatura

1. **Friedecký, B., Palička, V., Kratochvíla, J.:** Diagnostika diabetu pomocí plasmatické glukózy. Nerozřešený problém laboratorní medicíny. *Klin. Biochem. Metab.*, 25(4), 2017: 189-191.
2. **Sack, D. B., Arnold, M., Bakris, G. L., et al.:** Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *NACB*, 2011. Dostupné z: <https://www.aacc.org/science-and-practice/practice-guidelines/diabetes-mellitus>
3. **Friedecký B., Kratochvíla J., Springer D., Prázný M., Zima T.** Diabetes mellitus – laboratorní diagnostika a sledování pacientů. Společné doporučení České diabetologické společnosti a České společnosti klinické biochemie. *Klin. Biochem. Metab.*, 24(1), 2016: 39-50. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2016/2016-1/KBM-1-2016-doporuceni-DM-39.pdf>
4. **Juricic, G., Kopicinovic, L. M., Sara evic, A., Bakliza, A., Simundic, A. M.:** Liwuid citrate acidification introduces significant glucose bias and leads to misclassification of patients with diabetes. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2016, 54: 363-371.
5. **Norman, M., Jones, I.:** The shift from fluoride/oxalate to citric acid/fluoride blood collection tubes for glucose testint – the impact upon patient results. *Clin. Biochem.*, 2014, 47: 683-685
6. **Shaw, J. E., Zimmet, P. Z., McCarty, D., de Courten, M.:** Type 2 diabetes worldwide according to ne new classification and criteria. *Diabetes Care*, 2000, 23, Suppl. 2: B5-B10

Střet zájmů: Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů.

Do redakce došlo 31. 1. 2018

Adresa pro korespondenci:
 prof. MUDr. Jaroslav Racek, DrSc.
 Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK
 a FN v Plzni
 Alej Svobody 80
 304 60 Plzeň
 e-mail: racek@fnplzen.cz