




Metody stanovení CDT v NNH historie a současnost

Silvie Vaingátová

Odry, 10.11.2009

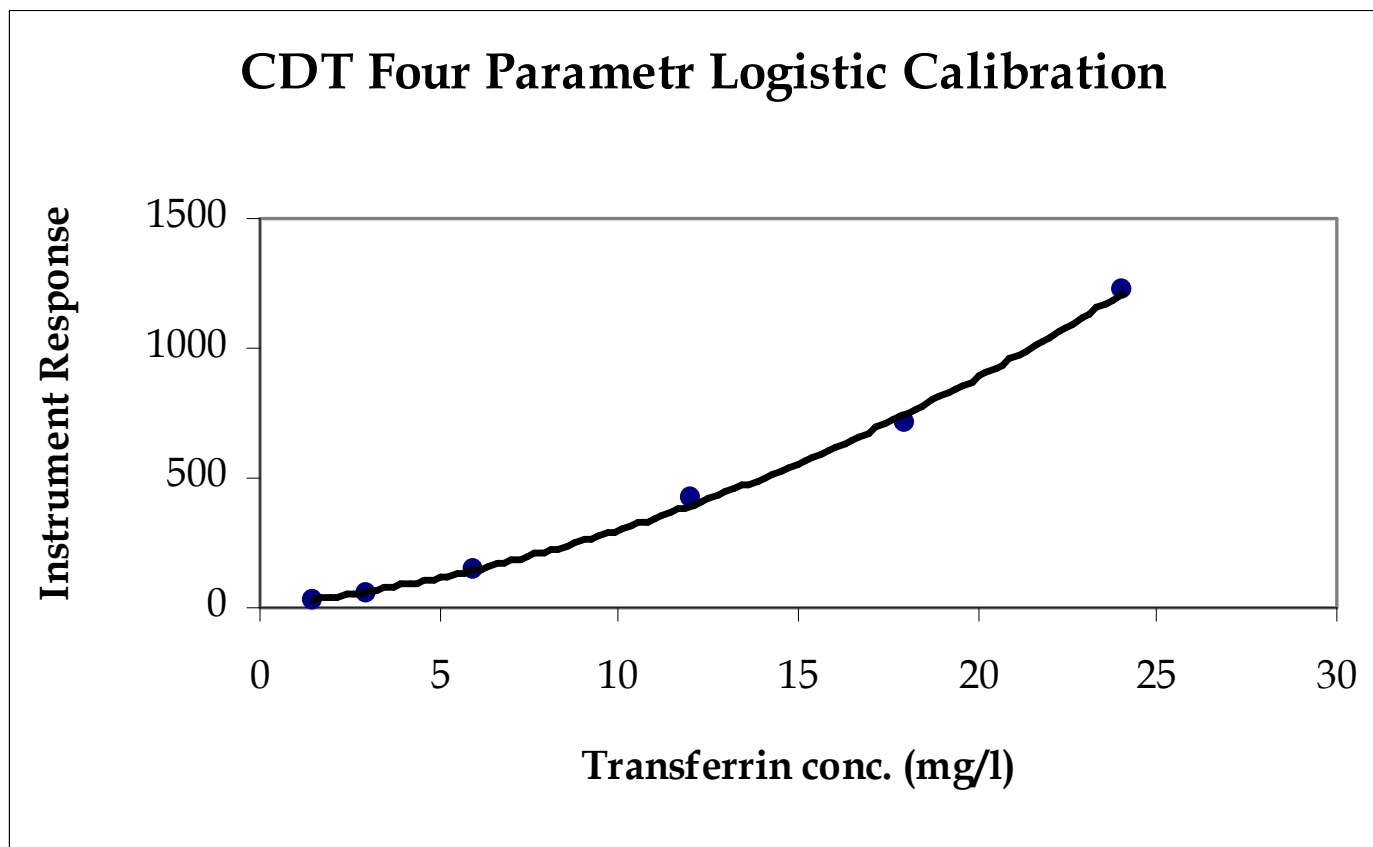
- 
-
- CDT stanovujeme od konce roku 2003, požadavek od lékařů z metabolické ambulance
 - 25% pro potřeby nemocnice, zbytek externí zdravotnická zařízení
 - V současné době : 50 vz. /měsíc



První metoda – používaná 5 let.

- BIO-RAD , %CDT TIA
- Nepřímá imunochemická analýza
- Separace pomocí iontově výměnné chromatografie
- Analyzátor – nefelometr Immage (Beckman Coulter)
- Metoda pracná, časově náročná
- Interní kontrola – Roche
- Externí kontrola INSTAND
- Cut off = 2,6 %

Kalibrační závislost





Ukončení dodávek – hledání nového řešení

- Testovali jsme několik možností.
- BN II – přímá imunochemie
- HPLC –Recipe

Chromsystems

BIO-RAD



BN II (Dade Behring)

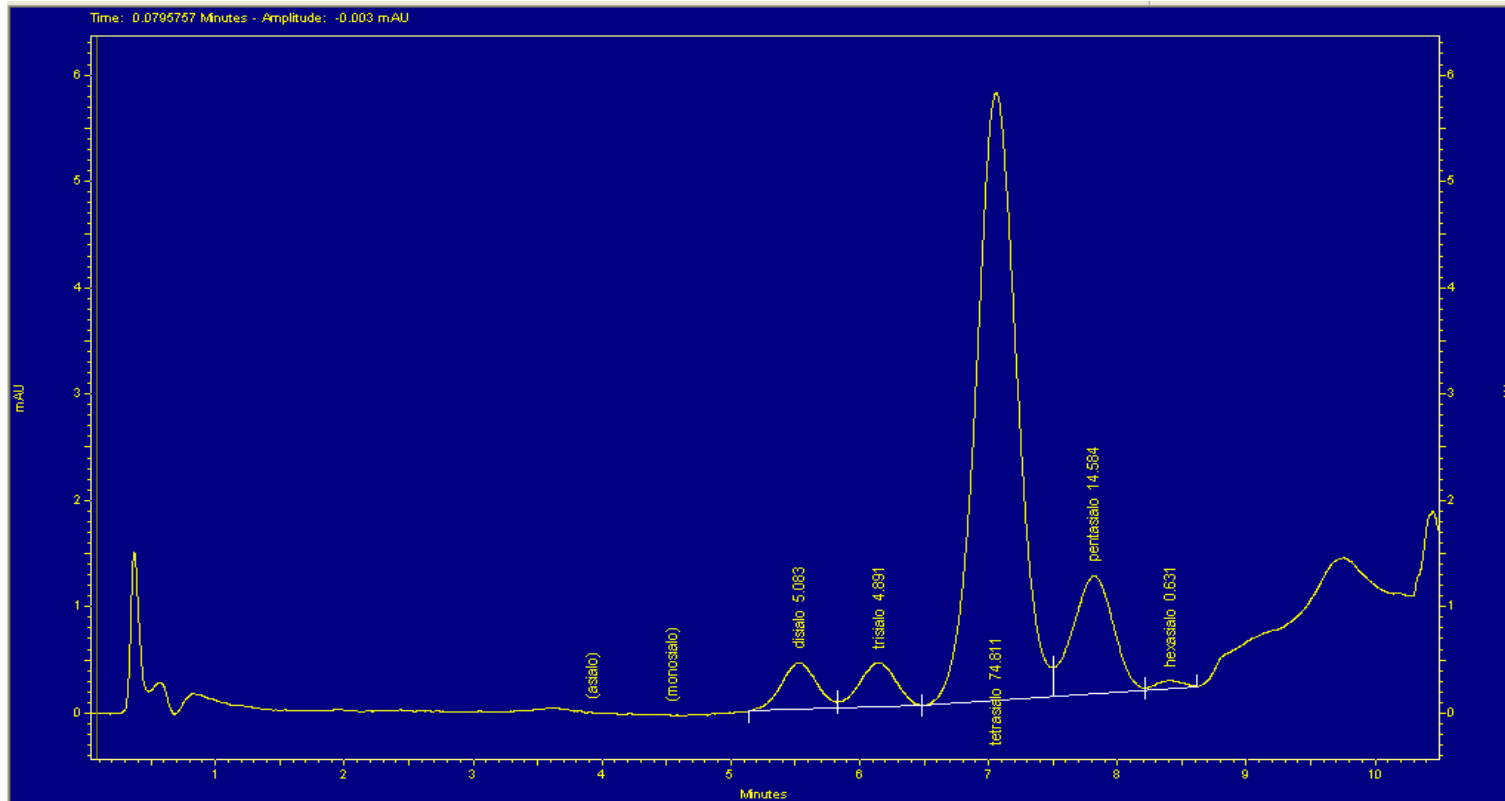
- Výhody – přímá imunochemie, rychlé zpracování vzorků bez nutnosti jakékoliv úpravy
- Nevýhody – jediná metodika na daném analyzátoru
přes velmi blízký cut off (2,5 %)
výsledky měření neodpovídaly



HPLC – reagenční kit Recipe

- 2 metody – online binární gradient, ternární gradient
- Instrumentace: termostat → 40°C
smyčka a syringe autosampleru
- Příprava vzorku – 150 µl séra + 40 µl předem připravené směsi reagentů,
inkubace 30 min, centrifugace, další ředění
nástřik 400-500 µl
- Dávkovací interval – 20 min (anal. 10 min,
proplach, stabilizace)
- Cut off 1,75% celkového transferinu, pozitivní
výsledek >2,5 %
- Interní kontrola Recipe

Chromatogram Recipe

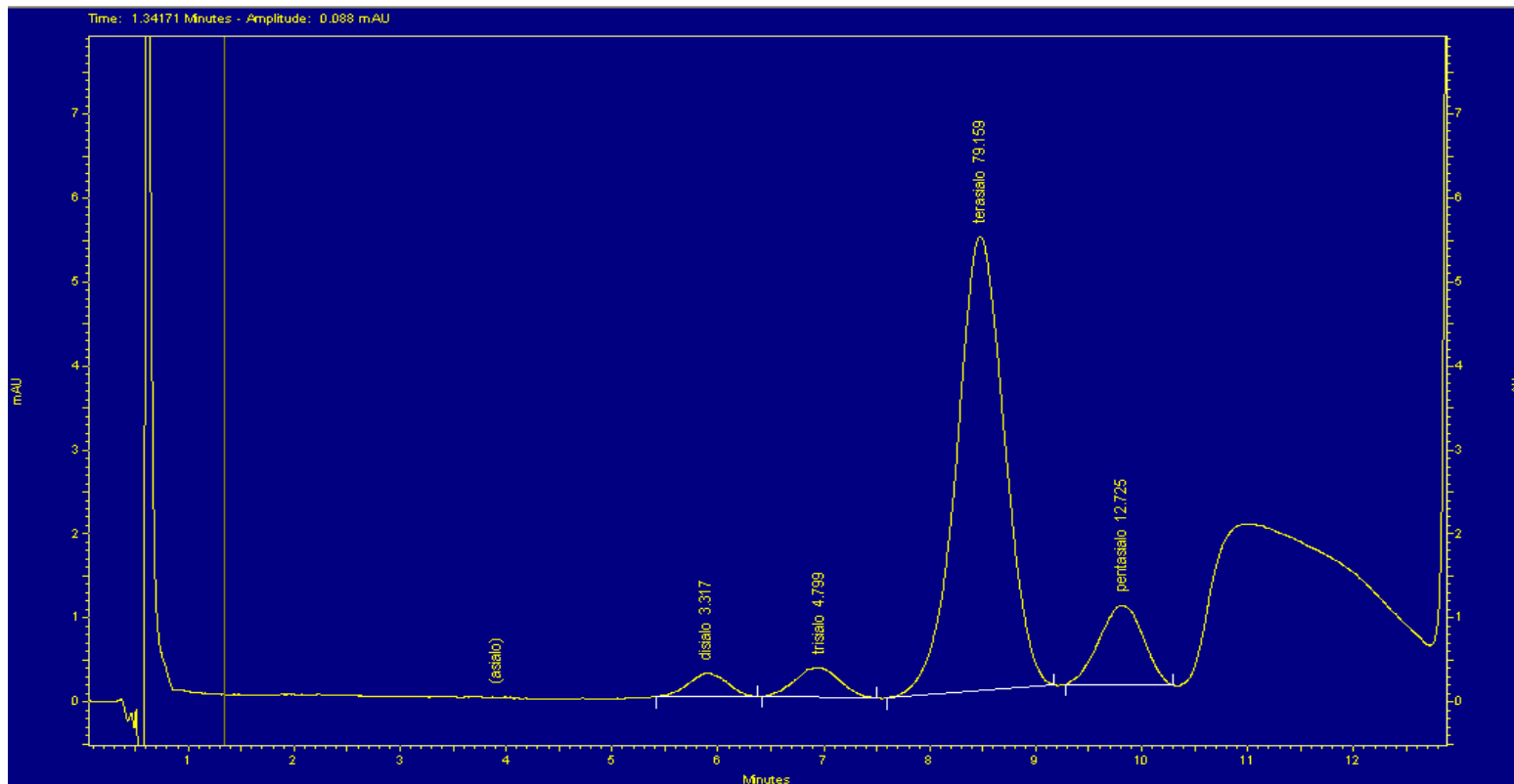




HPLC – reagenční kit Chromsystems

- Binární gradient
- Laboratorní teplota
- Příprava vzorku – 200 μ l séra + 100 μ l předem připravené směsi reagentů, inkubace 30 min, centrifugace, další ředění
- Nástřik 200 μ l
- Dávkovací interval - 22 min (anal. 12 min, proplach, stabilizace)
- Cut off 1,7% celkového transferinu, pozitivní výsledek >2,5 %
- Interní kontrola Chromsystems

Chromatogram chromsystems

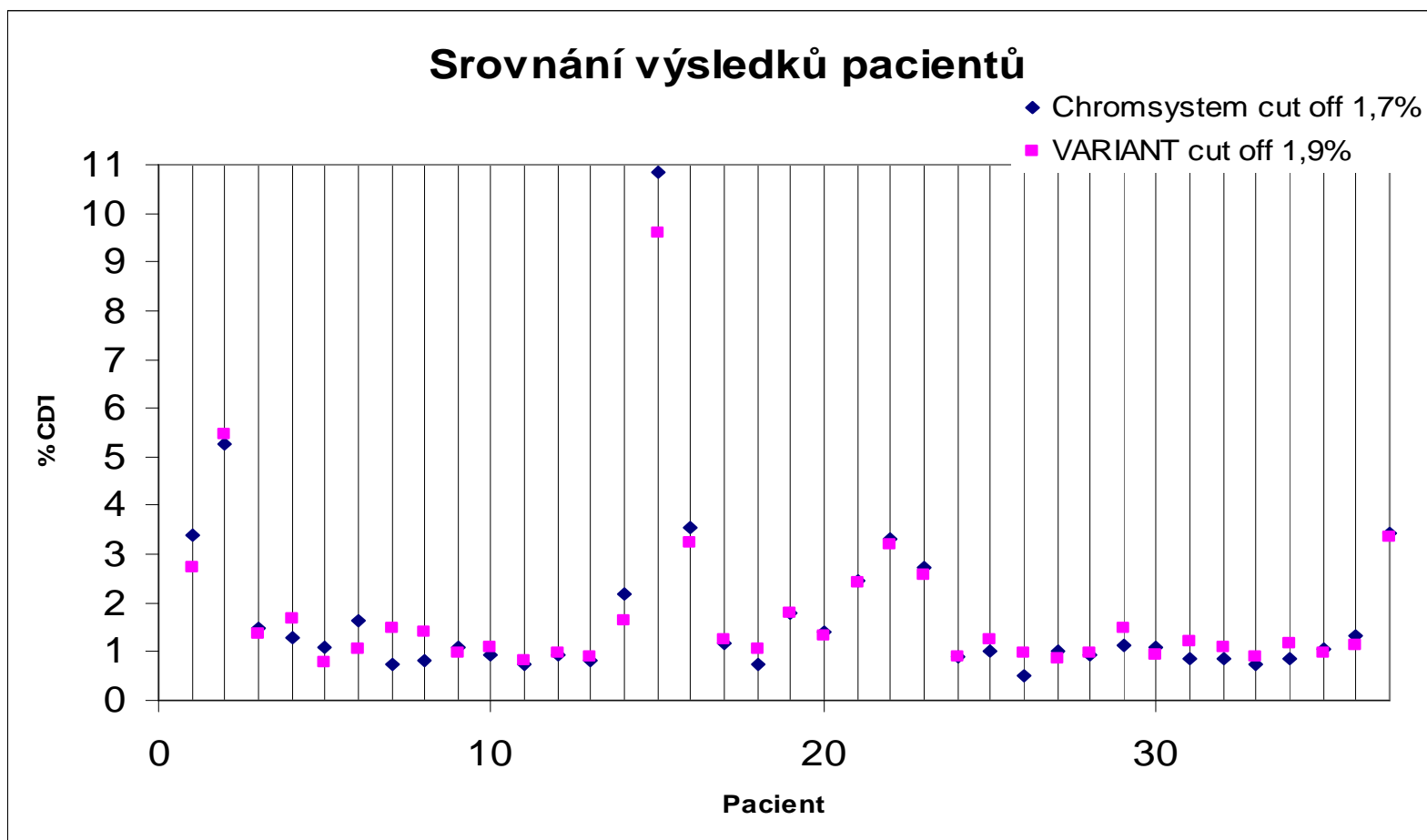




HPLC – BIO-RAD

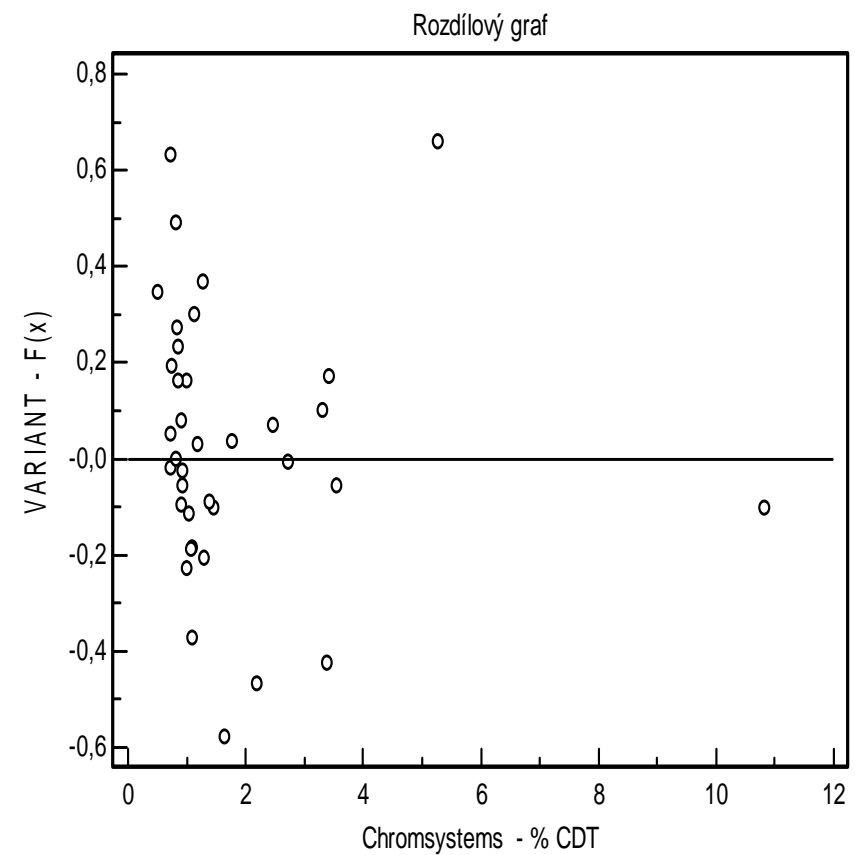
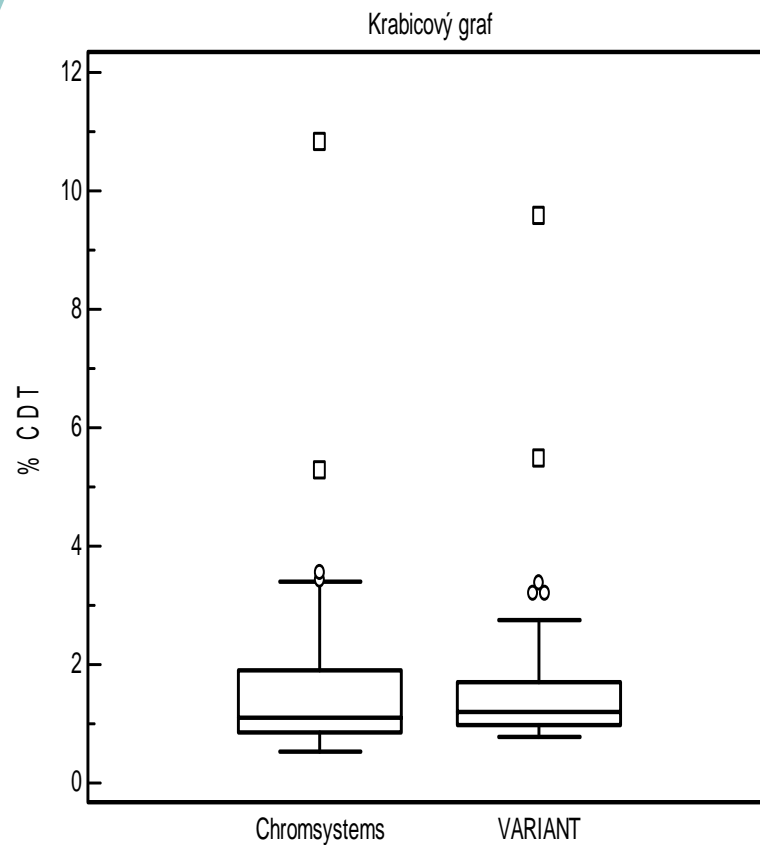
- Ternární gradient
- Příprava vzorku – 150 μ l séra + 450 μ l předem připravené směsi reagentů, inkubace 30-60 min, centrifugace
- Nástřik 100 μ l
- Dávkovací interval 8 min
- Metoda bez kalibrace
- Cut off 1,9%
- Interní kontrola BIORAD

První analýzy s Variantem



Korelace metod

- Rovnice regrese: $y = 0,8688x + 0,2324$
- Korelační koeficient $r = 0,9587$





Rozhodnutí

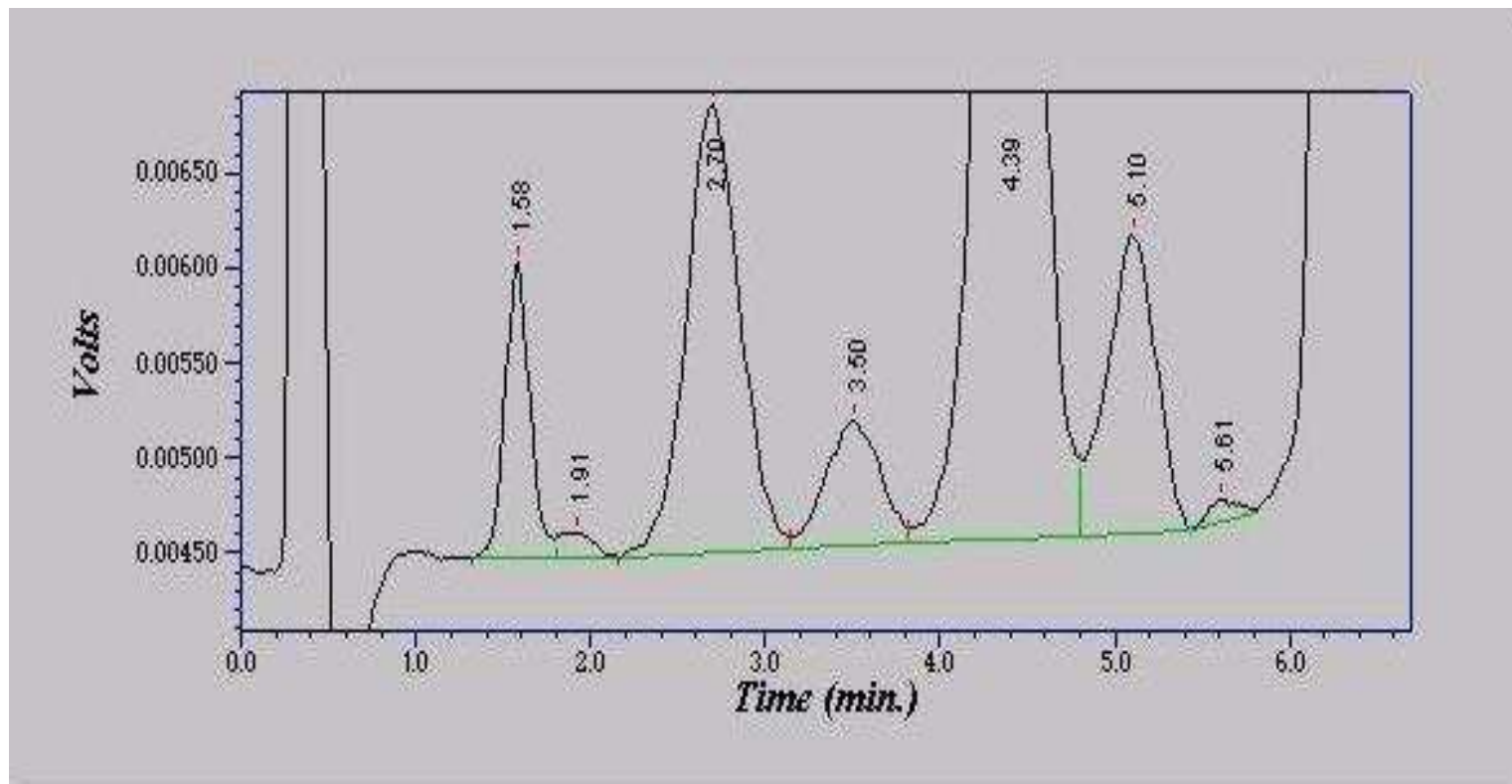
- Výrazné zkrácení doby analýzy
- Snadná manipulace s analyzátozem – jednoduché zaškolení
- Instrumentace – bez potřeby jakéhokoliv zásahu



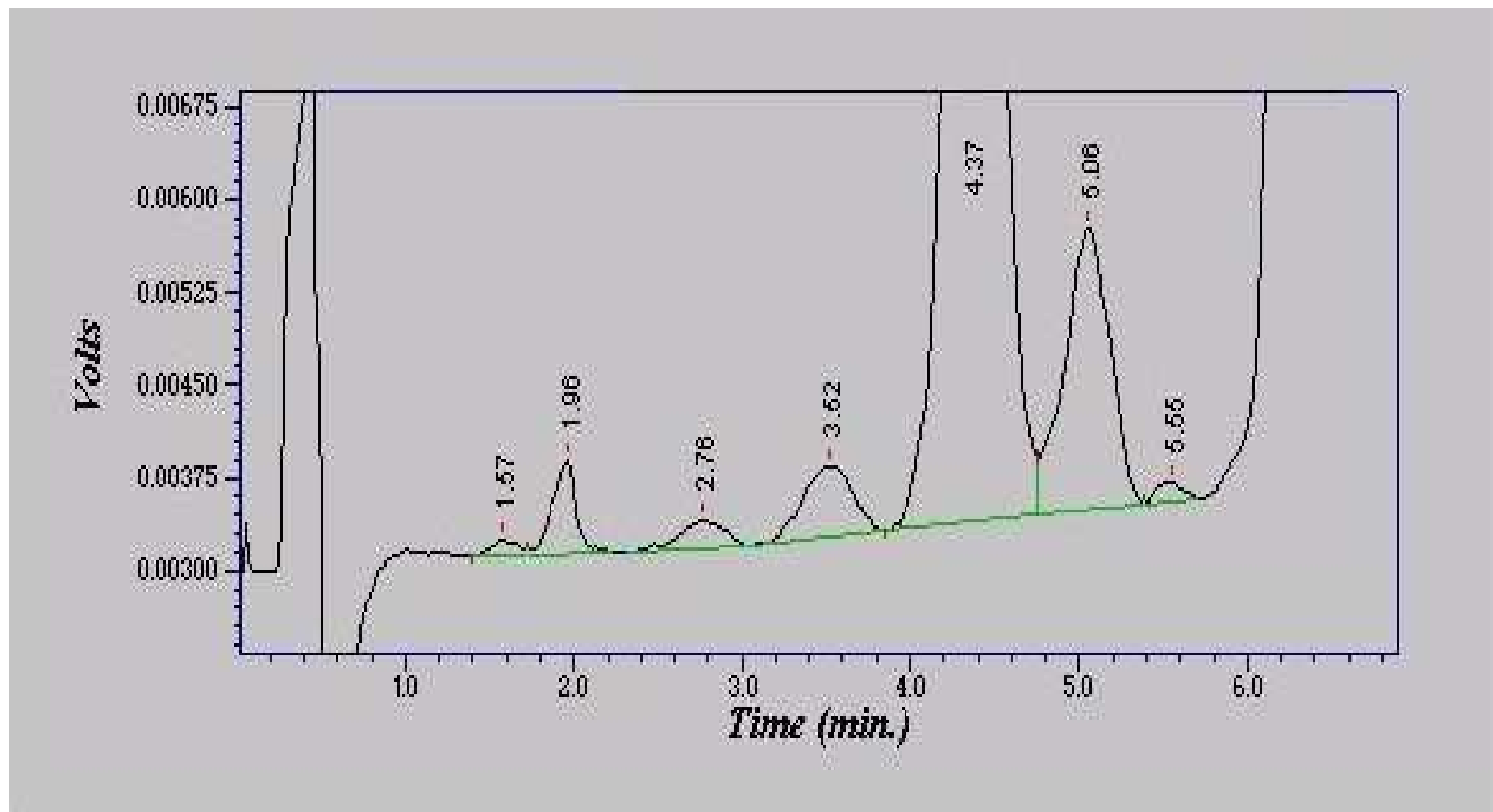
Zkušební

- Externí kontrola INSTAND
- Frekvence měření: 2 x měsíčně
- Sekvence 20 – 25 vzorků
- 5 % obtížně interpretovatelných

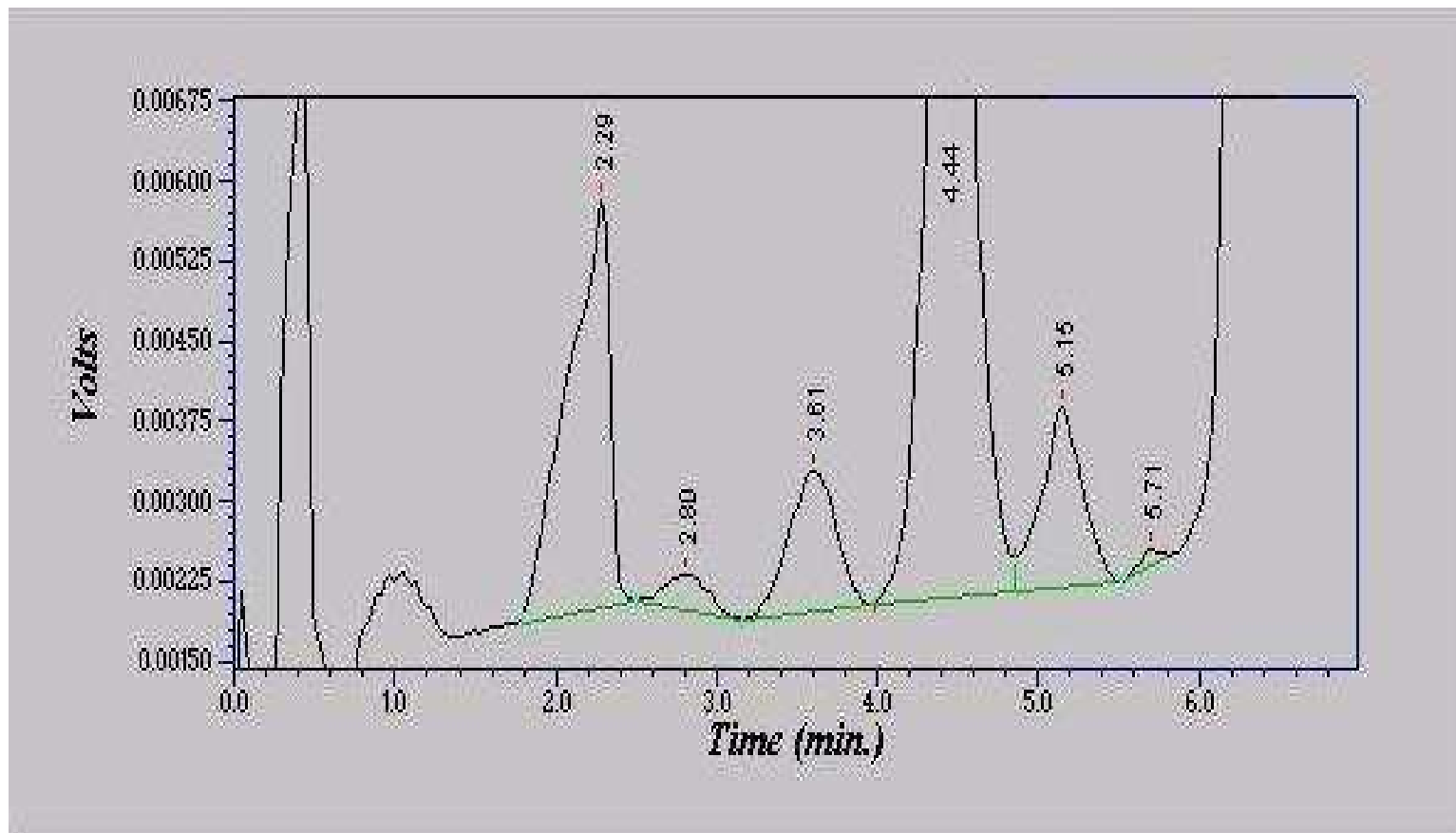
Pozitivní patientský vzorek



Negativní patientský vzorek



Problematická integrace





- Děkuji za pozornost