

Resultater av NKKs preanalytiske program 2013 - Preanalytiske forhold ved analyse av serum og/eller plasma glukose

Det var 46 laboratorier som besvarte undersøkelsen, men alle laboratoriene besvarte ikke alle spørsmålene.

A. Ikke fastende glukosemålinger

1.1 Valg av prøvemateriale og prøverør

De internasjonale retningslinjer og de diagnostiske kriteriene baserer seg på glukosemålinger utført i plasma. Bakgrunnen for bruk av plasma som prøvemateriale er som følger:

Umiddelbart etter en prøvetaking vil erytrocyttene i prøveglasset starte nedbrytning (glykolyse) av den glukose som finnes. Dersom erytrocyttene ikke fjernes fra prøvematerialet eller glykolysen hemmes vil den målte glukosekonsentrasjon bli for lavt i forhold til det som er pasientens reelle verdi. Faren for under-diagnostisering av diabetes er derfor stor (se tabeller under pkt C) i prøver som ikke er korrekt behandlet.

Inntil nå har den vanligste anbefalingen vært at man for å hindre nedbrytning av glukose etter prøvetaking enten umiddelbart sentrifugerer prøven og skiller plasma fra evt. at man hemmer glykolysen ved å sette prøven i isvann og så sentrifugerer denne etter maksimum 30 minutter (1). Serum har ikke vært anbefalt som prøvemateriale fordi det vanligvis må koagulere i romtemperatur i 30 minutter eller mer før det kan sentrifugeres.

Det er vist at det ikke er så stor forskjell på de verdiene man finner i plasma sammenlignet med ved serum målinger, dersom prøvematerialet har lik eksponeringstid for erytrocytter (1). Dersom plasma ikke behandles korrekt vil også dette prøvemateriale gi for lave verdier (2, 3). Det viktigste synes derfor ikke å være hvilke prøvemateriale som benyttes men hvor lang tid glukosen eksponeres for erytrocytter.

I dag finnes serum prøverør (Rapid Serum Tubes) som kan sentrifugeres 5 minutter etter prøvetaking. En studie viser at disse rørene etter 5 minutters koagulasjonstid gav ca. 4,5% høyere glukoseverdier sammenlignet med vanlige serum gel rør (BD SST_ II) som hadde koagulert i 30 minutter (4). Per i dag finnes det ikke studier som sammenligner om glukosekonsentrasjoner i slike hurtig koagulerende serum rør er stabile sammenlignet med forskriftsmessig behandlede plasma rør eller rør med glykolysehemmere.

Bruk av glykolyse hemmer

Det anbefales ikke lenger å bruke glykolysehemmere som kun inneholder fluorid. Dette fordi det tar tid før denne virker. Glukosekonsentrasjonen faller de første fire timene etter prøvetaking og den første timen faller konsentrasjonen i fluorid rør tilsvarende som i vanlige rør (1). Dersom man ikke ønsker å sentrifugere prøvene umiddelbart eller bruke isvann kan man bruke et rør som i tillegg til fluorid er tilsatt citrat, dette gir en umiddelbar hemming av glykolysen (2). Per i dag finnes det et slikt prøverør på markedet: Terumo Venosafe Glycaemia™ tubes som i Norge forhandles av VWR International. Produsenten oppgir at glukosekonsentrasjonen ved bruk av disse rørene er stabil i 48 timer. En uavhengig studie undersøkte holdbarhet i 24 timer og den var god (2). Slike rør er derfor egnet til sendeprøver.

1.2 Resultater (45-46 laboratorier besvarte)

Prøvemateriale

Om lag halvparten av laboratoriene (54%) benyttet både serum og plasma som prøvemateriale. Henholdsvis 44% og 2% benyttet kun serum eller kun plasma ved analyse av glukose. For de som hadde valgt kun serum som prøvemateriale var den vanligste årsaken logistiske forhold i laboratoriet (86%), preanalytiske forhold (19%), egne forsøk (10%) evt. andre grunner (24%). Under «andre grunner» var det nevnt at serum ble brukt for mange andre analyser, at det var enklest å forholde seg til ett prøvemateriale og at man ikke hadde kjørt inn analysemetoden i plasma. Av de som brukte begge prøvematerialene sa halvparten at de brukte disse om hverandre avhengig av hva de mottok. De fleste (75%) oppgav at ulike logistiske grunner (f.eks. pasientens lokalitet: inneliggend vs. eksterne eller poliklinikk vs. akutt hjelp) avgjorde hvilket materiale som ble brukt. Typisk var det mange som brukte plasma for akutte prøver begrunnet med at disse kan sentrifugeres umiddelbart. Preanalytiske forhold, uten at disse var nærmere spesifisert, var også en hyppig årsak (29%) til å bruke begge prøvematerialene.

Prøverør

Interne rekvirenter: 80% brukte serumrør med eller uten gel mens 49% brukte heparin plasma rør med eller uten gel.

Eksterne rekvirenter: 98% brukte vanlige serumrør med eller uten gel mens 7% brukte heparin plasma rør med eller uten gel.

Prøvebehandling

Ingen laboratorier satte prøvene i isvann (gjaldt også for prøver til fastende glukosemåling og oral glukosetoleransetest). 87% oppgav at de hadde prosedyrer for hvor raskt etter tapping prøverørene burde sentrifugeres evt. også pipetteres av dersom rør uten gel var benyttet. I tabell A1 er oppgitt antall laboratorier og de ulike tidsintervall de brukte før sentrifugering:

Resultatene er svært sprikende. Det er ikke undersøkt hvordan laboratoriene har bestemt holdbarheten av prøvemateriale men funnene tyder på at det gjøres på mange ulike måter.

3.1 Optisk interfererende substanser

Hemolyse

EQAnord gjennomførte i 1999 en studie mtp om glukosemålinger i serum påvirkes av hemolyse. Konklusjonen var at dette er et lite problem; ved hemoglobinkonsentrasjon 1 g/L falt glukosekonsentrasjonen (4,4 mmol/L) med under 2%, og tilsvarende påvirkning ble sett ved høyere konsentrasjoner (7,4 mmol/L).

Bilirubin

EQAnord gjennomførte i 2001 en interferens studie mtp om bilirubin kunne påvirke serummålinger av glukose. Denne studien viste at for de aller fleste metoder (unntak Kone 30i, Synchron CX5 og Axon) ble glukoseverdier med konsentrasjon 6,0 mmol/L svært lite påvirket av bilirubinemi selv når denne var tilstede i relativt høye nivå (konjugert bilirubin fra 75-400 µmol/L / ukonjugert bilirubin 140 µmol/L).

Triglycerider

NKK er ikke kjent med at det er gjort systematiske studier på evt. interferens av lipemi på glukosemålinger på et større antall instrumenter, glukose var ikke inkludert i EQAnord undersøkelse vedrørende interferens ved lipemi som ble gjennomført i 2000. Ved søk i Pubmed er det funnet en studie som viser at lipemi ikke interferer på glukosemålinger utført på Technicon (6) mens en annen studie har vist interferens på Roche Modular (glucoseoxidasemetoden) etter siking med intralipid (7). Hexokinase / dehydrogenasemetoden fra Roche som mange norske laboratorier benytter antas å være mer robust og en studie utført i 2011 fant ingen lipemisk påvirkning på glukosemålinger (8).

3.2 Resultater (45-47 laboratorier besvarte)

22% av laboratoriene svarte at de ikke undersøkte prøvemateriale mtp optisk interferens mens 38-42% undersøkte alle prøver med kvantitative målinger for hemoglobin, bilirubin og triglycerider/lipemi. 29% undersøkte optisk interferens ved inspeksjon. Om lag 15% undersøkte enkelte prøver med kvantitative målinger og dette ble da vanligvis gjort på bakgrunn av funn ved inspeksjon. Iom at optisk interferens er et lite problem for glukosemålinger er nok disse funnene også et uttrykk for hvor mange laboratorier som undersøker for optisk interferens på klinisk kjemiske parametre og hvor mange som ikke gjør dette.

B. Utredning av diabetes

1.1 Bakgrunnsinformasjon vedrørende utredning av diabetes

Indikasjon for utredning av mulig diabetes

Helsedirektoratet anbefaler at alle med symptomer på hyperglykemi (tørste, økt vannlating, vekttap, kløe nedentil, økt Infeksjonstendens) bør undersøkes for diabetes. Videre anbefales at følgende grupper med høy risiko for å utvikle diabetes undersøkes jevnlig (9):

- diabetes i nærmeste familie (foreldre/søsken/barn)
- etniske grupper med økt forekomst av diabetes (i Norge først og fremst grupper med opprinnelse fra Afrika/Asia)
- overvekt, spesielt abdominal fedme
- tidligere påvist svangerskapsdiabetes
- tidligere påvist nedsatt glukosetoleranse
- tidligere påvist for høy blodglukose
- kjent polycystisk ovariesyndrom (PCOS)
- hypertensjon
- hjerte- og karsykdom (nyoppdaget og etablert)
- dyslipoproteinemi med lav HDL-kolesterol og høye triglyserider
- fysisk inaktivitet
- daglig røyking
- alvorlig psykisk sykdom/bruk av enkelte psykofarmaka
- obstruktivt søvnapnesyndrom (40 % kan ha diabetes)
- bruk av kortikosteroider
- høy risiko i risikokalkulatorer, for etnisk norske individ se for eksempel: www.diabetesrisiko.no

Hvilke tester bør brukes

Siden september 2012 anbefaler helsedirektoratet at man ved diagnostikk av diabetes analyseres HbA1c som førstevalg. Glukosebaserte tester (fastende venøs plasma glukose og oral glukosebelastningstest) brukes kun for utvalgte grupper, dvs. gravide og personer med forkortet levetid av erytrocytter (pasienter med jernmangelanemi, hemolytisk anemi, kronisk malaria, større blødninger og transfusjoner) og pasienter med enkelte hemoglobinvarianter som kan interferere på HbA1c resultatet. Rapport fra den nasjonale arbeidsgruppen som utredet bruk av HbA1c for diagnostikk av diabetes finnes på: <http://legeforeningen.no/PageFiles/104318/HbA1c%20til%20diagnostikk%20av%20diabetes.pdf>

De diagnostiske kriteriene for diabetes er gitt i nedre rad av tabellen, pkt 1-3:

HbA1c \geq 6,5 %
Hvis ikke HbA1c kan benyttes ⁴ Fastende venøs plasma-glukose \geq 7,0 mmol/L Eller
2-timers venøs plasma-glukose etter 75 g oral glukosetoleransetest \geq 11,1 mmol/L Eller
Tilfeldig venøs plasma-glukose \geq 11,1 mmol/L hos en person som har klassiske symptomer på hyperglykemi eller hyperglykemisk krise
¹ Dersom pasienten ikke har symptomer på diabetes eller det ikke foreligger klinisk mistanke om diabetes, kreves to tester over de diagnostiske grensene før diagnosen stilles. Hvis pasienten av spesielle grunner undersøkes med to forskjellige diagnostiske kriterier og begge er over de diagnostiske grensene, har pasienten diabetes. Hvis to forskjellige tester er diskordante med hensyn til diabetes, gjentas testen som har gitt et resultat over den diagnostiske grensen. Diagnosen stilles hvis den gjentatte testen er over den diagnostiske grensen. ² For svangerskapsdiabetes er det egne diagnostiske kriterier som bare er basert på glukosemålinger. ³ Diagnosen bør ikke stilles når pasienten er akutt syk eller kort tid etter skader eller operasjoner. ⁴ HbA1c kan ikke benyttes ved endret omsetning av erythrocytter. Ved jernmangelanemi, hemolytisk anemi, kronisk malaria, større blødninger og transfusjoner kan det være manglende samsvar mellom HbA1c-resultatet og pasientens grad av glykemi. Enkelte hemoglobinvarianter kan føre til falske HbA1c-verdier. I disse tilfellene må diabetesdiagnostikken basere seg på glukosemålinger.

De diagnostiske kriteriene vedrørende glukosemålinger er bestemt på bakgrunn av studier hvor man har sammenlignet plasma glukose konsentrasjoner med utvikling av diabeteskomplikasjoner (retinopati) (10). Grensen settes ved den konsentrasjonen hvor man har funnet at komplikasjonsrisikoen øker betydelig. På samme måte er de diagnostiske HbA1c kriteriene satt på bakgrunn av de HbA1c verdiene man har funnet gir en betydelig komplikasjonsrisiko.

1.2 Resultater (44 laboratorier besvarte)

Det er ikke undersøkt om laboratoriene gav rekvirentene informasjon om indikasjon for utredning av diabetes. Hvilke tester man anbefalte når legen ønsker å gjøre utredning mtp diabetes ble imidlertid undersøkt: 59% av laboratoriene gav ikke rekvirentene informasjon om hvilke tester de burde bruke, 23% av laboratoriene anbefalte HbA1c som førstevalg mens glukosebasert testing ble anbefalt i enkelte pasientgrupper. Det var først og fremst for gravide (89%), ved anemi (78%), ved kjent hemoglobinvariant (56%) og etter blodtransfusjon (44%) at glukosebasert testing ble anbefalt. 11% anbefalte kun glukosebaserte tester mens

5% anbefalte anbefalte glukosebaserte tester som førstevalg og Hba1c kun for enkelte pasientgrupper.

Undersøkelsen viser at de fleste laboratorier ikke gir informasjon om indikasjon for bruk av laboratorieanalysene. De som gir slik informasjon hadde imidlertid i ganske stor grad (10 av 15 laboratorier) oppdatert denne i forhold til gjeldene retningslinjer.

C. Fastende glukosemålinger og oral glukosetoleransetest

1.1 Hva betyr preanalytisk prøvebehandling for oppfølging av fastende glukosemålinger og orale glukosetoleransetester

Vedrørende generell informasjon om prøvemateriale, prøverør, holdbarhet og optisk interferens henvises til kapittel A «Ikke fastende glukosemåling».

Eksempel-effekt av preanalytisk behandling på prevalens av diabetes

Dersom den preanalytiske behandlingen av glukoseprøver ikke er korrekt vil den målte konsentrasjonen endre seg i forhold til pasientens reelle verdi. På Haukeland Universitetssjukehus ble det i 2010 undersøkt hvilken effekt man fikk dersom prosedyrene for analyse av glukose ble endret. Denne undersøkelsen viste følgende:

Over en 5,5 mnd. periode ble det ved medisinsk poliklinikk utført 539 orale glukosetoleranse tester. Disse var tatt med vanlige serumprøver og sentrifugert etter minimum 30 minutt. Dersom en ser på analyseresultatene til disse 539 pasientene hadde 15,5% verdier som var forenelig med diagnosen diabetes. Dersom man øker glukosekonsentrasjonen hos alle pasientene med den differansen studier har vist det kan være mellom prøver som er sentrifugert etter 30 minutter i romtemperatur og prøver som er optimalt behandlet (dvs. med hhv med +0,76 mmol/l (2) og +0,20 mmol/l (3)) ville tilsvarende antall positive tester vært 28,6% og 18,9% (se tabell C1). Man kan altså risikere at bare halvparten av pasientene som har diabetes blir diagnostisert dersom man ikke behandler prøvene riktig.

Tabell C1. Antall diagnostiserte diabetikere (kolonne 1) og antall beregnede positive resultater ved korrekt preanalytisk behandling (kolonne 2 og 3).

	Utgangsverdi, serum	Differanse + 0,76 mmol/L	Differanse + 0,20 mmol/L
Fastande verdi ≥ 7 mmol/l	60	139	78
2 timars verdi $\geq 11,1$ mmol/L	59	71	65
Total antall	84 (15,5%)	154 (28,6%)	102 (18,9%)

1.2 Resultater: Fastende glukosemåling (15 laboratorier besvarte)

33% (totalt antall 15) av laboratoriene hadde mulighet til å skille ut prøver som var tatt til fastende glukosemåling fra øvrige prøver. Dette ble i all hovedsak gjort ved rekvisisjon av analysen. Ingen laboratorier endret valg av prøvemateriale eller prøverør brukt når det var rekvirert fastende sammenlignet mot ikke fastende glukosemåling. 1 laboratorium endret prosedyrer for sentrifugering når det var rekvirert fastende glukose (serum rør sentrifugeres etter 30 i stede for 60 minutter). Prosedyrer for holdbarhet var de samme som for vanlig glukosemåling.

1.3 Resultater: Oral glukosetoleransetest (42-44 laboratorier besvarte)

95% av laboratoriene hadde mulighet for å skille ut hvilke prøver som var rekvirert til oral glukosetest. 71% av laboratorier hadde oral glukosetoleransetest som en rekvirerbar analyse, 5% hadde avtale med enkelte rekvirentgrupper mens 20% gjenkjente disse prøvene på annet vis. 64% av laboratoriene brukte samme prøvemateriale for oral glukosetoleranse test som for vanlige ikke fastende glukosemålinger. Igjen oppgav laboratoriene logistiske forhold i laboratoriet som den viktigste årsaken ved valg av prøvemateriale (63%) men i tillegg var også preanalytiske forhold (32%) og nasjonale / internasjonale anbefalinger (29%) viktig for valg av materiale. 29% av laboratoriene endret tidsintervallet før sentrifugering for disse prøvene.

I tabellen er oppgitt antall laboratorier stratifisert i forhold til tidsintervall før sentrifugering:

	10 minutter	20 minutter	30 minutter	60 minutter	120 minutter
Serum rør	1	1	10	12	13
Plasma rør	9		4	5	2
Ulike typer rør med glykolysehemmere	1			1	

91% av deltagerne hadde de samme reglene for holdbarhet når prøven var tatt til oral glukosetoleransetest sammenlignet med ordinær glukosemåling. 4 laboratorier endret holdbarhetsregler, disse hadde i all hovedsak kortere holdbarhetstid for prøver til oral glukosebelastning.

Svært mange laboratorier (ca ¾) fulgte ikke anbefalingene vedrørende hvor rask analyse til fastende glukose og oral glukosetoleranse test bør sentrifugeres. Dette kan sannsynligvis betydelig påvirke diagnostikken av diabetes, som vist i eksempelet over. Laboratoriene bør derfor vurdere om de kan endre sine prosedyrer slik at flere prøver kan behandles korrekt.

D. Vurderinger fra deltagerne

1.1 Egen vurdering av hvordan laboratoriets prosedyrer etterleves (interne prøver)

Ca ¾ av laboratoriene mente at prosedyrene deres ble fulgt i mer enn 75% av tilfellene. Dette gjaldt både for vanlig, fastende og for prøver tatt til oral glukosetoleransetest. Øvrige laboratorier besvarte disse spørsmålene med «vet ikke» noe som viser at dette nok er noe laboratoriene finner vanskelig å vurdere.

1.2 Nytteverdi av NKK spreanalytiske program

86% mente at det preanalytiske programmet var svært eller nokså nyttig mens 14% syntes det hverken var nyttig eller unyttig.

Takk til

NKKs ekspertgruppe for nyttige innspill under veis og Astri Mette Husøy ved Laboratorium for klinisk biokjemi, Haukeland Universitetssjukehus for nyttige diskusjoner spesielt vedrørende de mange ulike tilgjengelige prøverør.

Referanser

1. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clinical chemistry*. 2011;57(6):e1-e47. Epub 2011/05/28.
2. Gambino R, Piscitelli J, Ackattupathil TA, Theriault JL, Andrin RD, Sanfilippo ML, et al. Acidification of blood is superior to sodium fluoride alone as an inhibitor of glycolysis. *Clinical chemistry*. 2009;55(5):1019-21.
3. Stahl M, Jorgensen LG, Hyltoft Petersen P, Brandslund I, de Fine Olivarius N, Borch-Johnsen K. Optimization of preanalytical conditions and analysis of plasma glucose. 1. Impact of the new WHO and ADA recommendations on diagnosis of diabetes mellitus. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2001;61(3):169-79. Epub 2001/06/02.
4. Prusa R, Doupovcova J, Warunek D, Stankovic AK. Improving laboratory efficiencies through significant time reduction in the preanalytical phase. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2010;48(2):293-6.
5. Bush VJ, Janu MR, Bathur F, Wells A, Dasgupta A. Comparison of BD Vacutainer SST Plus Tubes with BD SST II Plus Tubes for common analytes. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2001;306(1-2):139-43.
6. Miyada D, Tipper P, Jantsch D, Simpkins H, Steele W, Flores O. The effect of hyperlipidemia on Technicon SMAC measurements. *Clinical biochemistry*. 1982;15(4):185-8.
7. Grunbaum AM, Gilfix BM, Gosselin S, Blank DW. Analytical interferences resulting from intravenous lipid emulsion. *Clinical toxicology*. 2012;50(9):812-7.
8. Calmarza P, Cordero J. Lipemia interferences in routine clinical biochemical tests. *Biochemia medica : casopis Hrvatskoga drustva medicinskih biokemicara / HDMB*. 2011;21(2):160-6.
9. Helsedirektoratet. Nasjonale faglige retningslinjer. Diabetes. Forebygging, diagnostikk og behandling. 2009.
10. World Health Organization. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycaemia. 2006.