

Csv/P-Glukos med cobas c 501/701

Medicinsk bakgrund

Analys-/bestämnings-/mätprincip

Apparatur

Bipacksedel

Material

Kontroller

Provtagning och provhantering

Utförande

Resultat/tolkning

Svarsrutiner

Referensintervall

Ersatta metoder

Referenser

Justeringstabell

Medicinsk bakgrund

Glukos intar en central plats i kroppens energiomsättning, där hjärna och erytrocyter är mer beroende av glukos för sin energiförsörjning än andra vävnader. Glukosomsättningen är relativt konstant och vid kortvarig fasta varierar glukoskoncentrationen i blod inom snäva gränser beroende på en strikt metabol kontroll. Vid fasta bildas och frisätts glukos från levern. Detta sker i första hand genom nedbrytning av glykogen. Efter hand ökar produktionen av glukos från aminosyror (glukoneogenes) och vid längre tids fasta sker energitillförseln genom nedbrytning av fettsyror. Koncentrationen i blod regleras i första hand av insulin som sänker och glukagon som höjer blodsockerhalten. Ett flertal andra hormoner kan verka blodsockerhöjande såsom katekolaminer, glukokortikoider, tillväxthormon och tyreoidhormoner. Bestämning av glukos i blod är framför allt indicerad vid diagnostik och behandlingskontroll av diabetes mellitus.

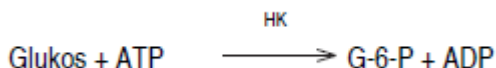
Glukos i cerebrospinalvätska är normal något lägre än i blod p g a hjärnans höga glukosmetabolism. Passagen från blod sker via en specifik glukotransportör och koncentrationen i spinalvätska samvarierar med koncentrationen i plasma. Vid bakteriell meningit sjunker glukos i spinalvätska och kvoten mot plasmaglukos minskar. Kvoten C_{sv}/P-glukos är även låg vid en ovanlig ärftlig sjukdom med defekt glukotransport över blod-hjärnbarriären (glukotransportprotein typ 1-brist).

Analys-/bestämnings-/mätprincip

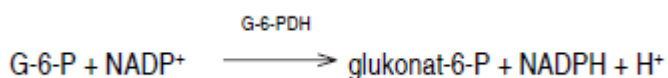
Enzymatisk metod (hexokinas).

2-punkt end. med en ökning i reaktionsriktning.

Hexokinas katalyserar fosforyleringen av glukos till glukos-6-fosfat med hjälp av ATP (se reaktionsformeln nedan).



Glukos-6-fosfatdehydrogenas oxiderar glukos-6-fosfat i närvaro av NADP⁺ till glukonat-6-fosfat. Ingen annan kolhydrat oxideras. Hastigheten för NADPH-bildande under reaktionen står i direkt proportion till glukoskoncentrationen och mäts fotometriskt vid 700/340 nm.



Apparatur

cobas c 501/701

Roche Diagnostics
Scandinavia AB

Bipacksedel

Bipacksedlar från kontroller och kalibratorer sparas (om ny lot) i separata pärmar på sektionen. Information förmedlas till metodansvarig för analysen. Annan information från firman sätts in i metodloggboken eller sparas på G-mappen. Alla nya lotnummer ska skrivas in i QM.

Material

Reagens

För utförlig information om delar av reagensinnehåll se produktregister i kemikaliehanteringssystemet KLARA på Lisa:

http://www.port.se/alphaquest/app_lin/pcmain.cfm.

För systemlösningar, se respektive apparatbeskrivning [cobas 6000 \(cobas c 501/e 601\)](#) eller [cobas 8000 \(ISE/ c 701/ c 502/ e 602\)](#).

Glukos HK (GLUC3) Reagens

Roche Diagnostics
Scandinavia AB

Innehåller

R1: (position B)	MES-buffert	5.0 mmol/L, pH 6.0
	Mg ²⁺	24 mmol/L
	ATP	≥ 4.5 mmol/L
	NADP	≥ 7.0 mmol/L
	Konserveringsmedel	
R3: (US) R2: (ViN/LiM) (position C)	HEPES-buffert	200 mmol/L, pH 8.0
	Mg ²⁺	4 mmol/L
	HK (jäst)	≥ 300 µkat/L
	G-6-PDH (E. coli)	≥ 300 µkat/L
	Konserveringsmedel	

En reagensförpackning räcker till 2200 analyser (US), 800 analyser (ViN/LiM).

Utförande

US: Reagenset är klart att använda. Placera i rotor **B**.

OBS Ta av korkarna på reagenskassetten innan isättning i instrumentet och undvik skumbildning. Sätt i kassetten med den vita delen av RFID-etiketten åt vänster (RFID-etiketten sitter ovanpå reagenset). Vilken plats i reagensrotorn den sätts i spelar ingen roll. Gör en "Reagens registrering", se apparatbeskrivning [cobas 8000 \(ISE/ c 701/ c 502/ e 602\)](#)

ViN/LiM: Reagenset är klart att använda. Reagenskassetter kan laddas under drift. Sätt i kassetten med streckoden åt höger i kassetporten. Kassetten laddas in automatiskt av instrumentet.

Hållbarhet

Oöppnad förpackning	Till utgångsdatum vid 2-8°C
Öppnad förpackning kyld i instrumentet	4 veckor (US) 8 veckor (ViN/LiM)

DiluentRoche Diagnostics
Scandinavia AB**Innehåller**

NaCl 9 %

Utförande**US:** Reagenset är klart att använda. Placera i rotor **B**.**OBS** Ta av korkarna på reagenskassetten innan isättning i instrumentet och undvik skumbildning. Sätt i kassetten med den vita delen av RFID-etiketten åt vänster (RFID-etiketten sitter ovanpå reagenset). Vilken plats i reagensrotorn den sätts i spelar ingen roll. Gör en "Reagens registrering", se apparatbeskrivning [cobas 8000 \(ISE/ c 701/ c 502/ e 602\)](#)**ViN/LiM:** Reagenset är klart att använda. Reagenskassetter kan laddas under drift. Sätt i kassetten med streckkoden åt höger i kassettporten. Kassetten laddas in automatiskt av instrumentet.**Hållbarhet**

Oöppnad förpackning	Till utgångsdatum vid 2-8°C
Öppnad förpackning	4 veckor (US) 12 veckor (ViN/LiM)

Kalibratorer/kalibrering

Kalibratorer innehåller humanplasma. Dessa är kontrollerade mot HIV och hepatit B och funna negativa, men eftersom dessa metoder ej är helt säkra bör alla kalibratorer behandlas som humana prover.

Calibrator for automated systems (C.f.a.s)Roche Diagnostics
Scandinavia AB**Spårbarhet**

Metoden har standardiserats mot ID/MS.

Innehåller

Frystorkat kalibreringsserum, humanbaserat, 12 x 3 ml.

Beredning

Öppna flaskan försiktigt och tillsätt exakt 3,0 mL typ I-vatten/typ II-vatten. Blanda på rörvändare/vagga i 30 minuter. Undvik skumbildning. Portionera upp 300 µl i eppendorfkoppar och frys in.

Utförande

2-punktskalibrering. Kalibrering krävs vid reagenslotbyte.

För utförande se apparatbeskrivning [cobas 6000 \(cobas c 501/e 601\)](#) eller [cobas 8000 \(ISE/ c 701/ c 502/ e 602\)](#).**Hållbarhet**

Oöppnad förpackning	Till utgångsdatum vid 2-8°C
Uppspädd kalibrator	8 h i rumstemp., 2 dygn i kylskåp 1 månad i frys

Kontroller

Kontroller innehåller humanplasma. Dessa är kontrollerade mot HIV och hepatit B och funna negativa, men eftersom dessa metoder ej är helt säkra bör alla kontroller behandlas som humana prover.

Intern kvalitetskontroll

För respektive kontroll, se apparatbeskrivning [cobas 6000 \(cobas c 501/e 601\)](#) eller [cobas 8000 \(ISE/ c 701/ c 502/ e 602\)](#).

Alla interna kontroller överförs till QM-systemet där medelvärde, SD och CV beräknas.

Löpande kontroller hanteras och tekniskt godkännande sker enligt [Metodkontroll, kontrollhantering, Klinisk farmakologi, Klinisk immunologi och transfusionsmedicin, Klinisk kemi](#).

För övrigt se [Metodkontroll QM-rutiner med flödesschema](#).

Extern kvalitetskontroll

Kontrollen analyseras på samma sätt som ett patientprov. Resultaten från denna kontroll läggs in i QM. Efter varje analystillfälle av extern kontroll erhålls en sammanställning avseende vår position i jämförbar metodgrupp.

Se [Externa kvalitetskontrollprogram, Klinisk kemi och Klinisk farmakologi](#).

cobas c 701 deltar i extern kvalitetssäkring. För övriga instrument sker jämförelse mot mentorinstrument cobas c 701 (272) med patientprovsinskick. Resultatet av varje enskilt instruments jämförelse mot mentorinstrumentet finns tillgänglig i QM under respektive instrument.

Se även [Metodkontroll, kontrollhantering, Klinisk farmakologi, Klinisk immunologi och transfusionsmedicin, Klinisk kemi](#).

Provtagning och provhantering

Blod

Ta blodprov i vakuumrör innehållande citratbuffert, natriumfluorid och K2-EDTA. För normal fyllnad se streckmarkering på rör.

Blanda genom att vända röret 10 ggr.

Vid kapillärprovtagning kan analys utföras i heparin eller EDTA plasma. Provet måste dock snarast lämnas till lab och analyseras inom 30 min. efter provtagning.

Citrat hämmar glykolysen omedelbart, medan det tar 20 – 30 min innan fluoriden hinner tränga in i cellerna och hämma nedbrytningen av glukos.

Hållbarhet

Efter provtagning är provet hållbart ett dygn i rumstemperatur ocentrifugerat och 3 dygn efter centrifugering och avpippetering.

Vid förvaring > 3 dygn ska plasma avskiljas och frysas (-20 °C).

Hållbarheten i okorkade rör, förvarade i rumstemperatur, är acceptabel i max 6 h.

Hållbarhetstestets underlag finns under ALAT-fliken i dokumentskåpet på US.

Csv/P-Glukos kvot

Blodprov för P-glukos bör tas omedelbart före prov för ryggmärgsvätska. Vid utredning av glukotransportdefekt rekommenderas 4-6 h fasta före provtagning.

Ta provet för csv-glukos i odlingsrör utan tillsats. Prov för Csv-glukos bör lämnas till lab inom 10 min. direkt till analyserande personal. Centrifugera provet snarast (senast 30 min efter provtagning) och analysera omedelbart.

Utförande

Förberedelser

Blod

Provet centrifugeras i 10 minuter vid 1800 – 2500g (RCF), alternativt 7 minuter vid 2500g (RCF). Lipemisk plasma ultracentrifugeras.

Csv

För att vinna tid centrifugeras csv-röret med fördel i 7 min vid 2500 g. Om blödningsutredning är beställd rekommenderas dock lägre centrifugeringshastighet (se metodbeskrivning för Csv-Blödningsutredning). Prov för cellräkning måste avskiljas innan centrifugering.

Analys/bestämning

Se apparatbeskrivning [cobas 6000 \(cobas c 501/e 601\)](#) eller [cobas 8000 \(ISE/ c 701/ c 502/ e 602\)](#).

Resultat/tolkning

Beräkning

Om provet är utanför mätintervallet omanalyseras provet automatiskt och resultatet beräknas av cobas c 501/701 (spädning 1:2).

US

Om resultatet är över det utökade mätområdet ska provet beställas om i cITm med en högre spädning än den automatiska (max 1:50). Resultatet beräknas av cobas c 701. Räcker inte denna spädning måste provet spädas manuellt med NaCl samt multipliceras med spädningsfaktorn.

ViN/LiM

Om resultatet är över det utökade mätområdet ska provet beställas om i instrumentet med en högre spädning än den automatiska. Resultatet beräknas av cobas c 501. Räcker inte denna spädning måste provet spädas manuellt med NaCl samt multipliceras med spädningsfaktorn.

Precision (total mätosäkerhet)

Se metodvalideringar i dokumentskåp samt internt kvalitetssystem (QM).

Kontrollnivå och mätosäkerhet för metoden finns i QM.

Riktighet

För cobas c 501 (ViN/LiM) och cobas c 701 (US) är jämförelse utförd mot mentorn Advia 1800 (US). Se respektive metodvalidering.

Mätområde

0,11 – 41,6 mmol/ Automatisk omkörning utökar mätområdets övre gräns (spädning 1:2) till 83,2 mmol/L. Se även rubriken Beräkning.

Detektionsgräns

Nedre detektionsgräns är 0,11 mmol/L.

Interferenser

Enligt Roches metodblad:

Ikterus: Ingen signifikant interferens vid ett I-index på upp till 60 för konjugerat bilirubin, ungefärlig koncentration: 1026 μ mol/L.

Hemolys: Ingen signifikant interferens vid ett H-index på upp till 1000 för hemoglobin, ungefärlig koncentration 10 g/L. Om H-index är >1000 ersätts svaret med kommentaren ”hemolys”.

Lipemi: Ingen signifikant interferens vid ett L-index på upp till 1000. Det är dålig korrelation mellan L-index (motsvarar turbiditet) och triglyceridkoncentration.

Läkemedel: Ingen interferens påvisades för terapeutiska koncentrationer vid användning av vanliga läkemedelspaneler.

I mycket sällsynta fall kan **gammopati**, särskilt typ IgM (Waldenströms makroglobulinemi), orsaka icke tillförlitliga resultat.

Bedömning

Diagnosen diabetes ställs med upprepat fP-glukos $\geq 7,0$ eller typiska symtom kombinerat med P-glukos $\geq 12,2$ (kapillärt) eller $\geq 11,0$ (venöst).

Hos asymtomatiska personer med slumpmässigt uppmätta P-glukosnivåer mellan 9,0 och 12,2 är kontroll av fP-glukos x 2 alternativt glukosbelastning motiverad.

Låga nivåer (< 2,8 mmol/L) ger oftast symtom på hypoglykemi och kan vara livshotande. Höga nivåer (> 28 mmol/L) kan, särskilt om stegringen skett akut, ge symtom på trötthet och förvirring. Kraftig förhöjda nivåer leder till vätskebalansrubbningar.

Observera att vissa sjukdomstillstånd med allmänpåverkan eller hormonell rubbning samt vissa läkemedel kan medföra ett förhöjt P-glukos utan att detta innebär diabetes.

Svarsrutiner

Svar lämnas med en decimals noggrannhet för resultat < 20 mmol/L, däröver endast heltals noggrannhet.

Resultat < 1,0 mmol/L besvaras < 1,0 mmol/L.

Resultat < 2,8 mmol/L och > 28 mmol/L betraktas som larmgräns, d.v.s. d.v.s. svaret rings alltid till beställaren om patienten inte har haft liknande värde senaste dygnet. Skriv i kommentarsrutan i FlexLab att svaret är ringt samt ditt HSA-id. Det skriftliga svaret till kund åtföljs av kommentaren ”**Larmgräns**”.

Svar på Csv/P-glukoskvot lämnas med 2 decimalers noggrannhet.

Referensintervall

fP/kfP-Glukos: 4,2–6,0 mmol/L

P-Glukos (icke fastande): Diagnosgräns för diabetes $\geq 11,0$ mmol/L (venöst)

kP/-Glukos (icke fastande): Diagnosgräns för diabetes $\geq 12,2$ mmol/L (kapillärt)

Diagnos av diabetes ställs om fP-glukos $\geq 7,0$ mmol/L uppmäts på minst två prov tagna vid olika tillfällen.

Källa: Nedre referensgräns enligt NORIP [5]. Övre referensgräns samt diagnosgränser för icke fasteprover enligt WHO:s riktlinjer (1998) för bedömning av p.o. glukosbelastning.

Csv/P-Glukos kvot: $>0,60$

Källa: Laurells Klinisk Kemi i praktisk medicin [1] samt Leen et al. [6]

Ersatta metoder

Klinisk kemi US

kB/U/Sp-Glukos med Glukosdehydrogenas på RA 1000 (1986)
kB/U/Sp-Glukos med GDH på RA 1000 och RA-XT (1986, med ändr. 1988)
kB/B/U/Sp-Glukos, manuell metod med Glukosdehydrogenas (1988)
kB/B/U-Glukos med Glukosdehydrogenas på RA 1000 och RA-XT (1990)
kB/B/U-Glukos, manuell metod med Glukosdehydrogenas (1990)
kB/U/Sp-Glukos med Glukosdehydrogenas på RA 1000 och RA-XT (1990)
B-Glukos med Hitachi 717 (1993)
B-Glukos med Hitachi 917 (1996)
B-Glukos med Hitachi 911 (2002)
P-Glukos med Advia 1650 (2003)
P-Glukos med Advia 1800 (2007)
P-Glukos (GLUH3) med Advia 1800 (2011)

Klinisk kemi ViN

kB-Glukos med General Diagnostics Hexokinasetod (Gluco-Strate) (1975)
kB/B/U-Glukos med Gluc.DH Merck på RA 1000 (1986)
kB/B/U-Glukos med Granutest Glukos Merck på RA 1000 och RA-XT (1989)
B-Glukos med Hitachi 911 (1993)
B-Glukos med Hemocue (1999)
P-Glukos med Advia 1650 (2003)
P-Glukos (GLUH 3) med Advia 1650 (2011)
P-Glukos (GLUH 3) med Advia 1800 (2014)

Klinisk kemi LiM

P-Glukos med Advia 1650 (2008)
P-Glukos (GLUH 3) med Advia 1650 (2011)
P-Glukos (GLUH 3) med Advia 1200 (2011)

Referenser

1. Nilsson-Ehle P., Berggren-Söderlund M., Theodorsson E. (red) Laurells Klinisk Kemi i praktisk medicin, upplaga 9, Studentlitteratur (2012)
2. Mårtensson A., Nordin G. Övergång från Blod-Glukos till Plasma-Glukos. Diabetolog Nytt, 2004;17(2-3).
3. Groop L. Ny diagnostik och klassifikation av diabetes. *Läkartidningen* 1998; **95**(46):5151-5.
4. World Health Organization 1999, Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Pdf-fil på internet:
http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/WHO_NCD_NCS_99.2.pdf
5. Simonsson P, Mårtensson A, Rustad P *Läkartidningen* 2004; **101**(10):901
6. Leen WG et al. Cerebrospinal fluid analysis in the workup of GLUT1 deficiency syndrome, a systematic review, *JAMA Neurology*, 2013,70(11);1440-1444
7. Metodblad GLUC3. Roche Diagnostics, 2016-07, v 6.0.
8. Metodblad Calibrator for automated systems, Roche Diagnostics, 2018-05, v 11.0.
9. Traceability and Uncertainty, Roche Diagnostics, juni 2015.

Justeringsstabell

Version	Avsnitt samt principiellt vad som ändrats	Ansvarig
1	Dokumentet överfört från Platina till Dokumenta.	C Sundström
2	Implementerat ny metodmall med nya rubriker. Förberedelser: Ändrat centrifugeringstid från 5 till 7-10 min samt varvtal från 2400 till 2500 g. Referenser: Uppdaterat. Begränsning av läsrättighet till laboratoriemedicin.	M Skala C Sundström