

# Menadžment preanalitičke faze: utjecaj korištenja epruveta sa tekućim citratom na dijagnozu gestacijskog dijabetesa

Marija Kocijančić, mag.med.biochem  
Medicinsko-biokemijski laboratorij, Dom zdravlja Primorsko-goranske županije, Rijeka

# UVOD

- Laboratorijski nalazi su sastavni dio u donošenju medicinskih odluka, a dobiveni rezultati često snažno utječu na medicinsku dijagnozu i terapiju
- Laboratoriji **rutinski** koriste komercijalne dijagnostičke proizvode tijekom procesa testiranja
- Neki proizvodi **nisu potvrđeni/verificirani** prije nego ih laboratorij odluči početi koristiti

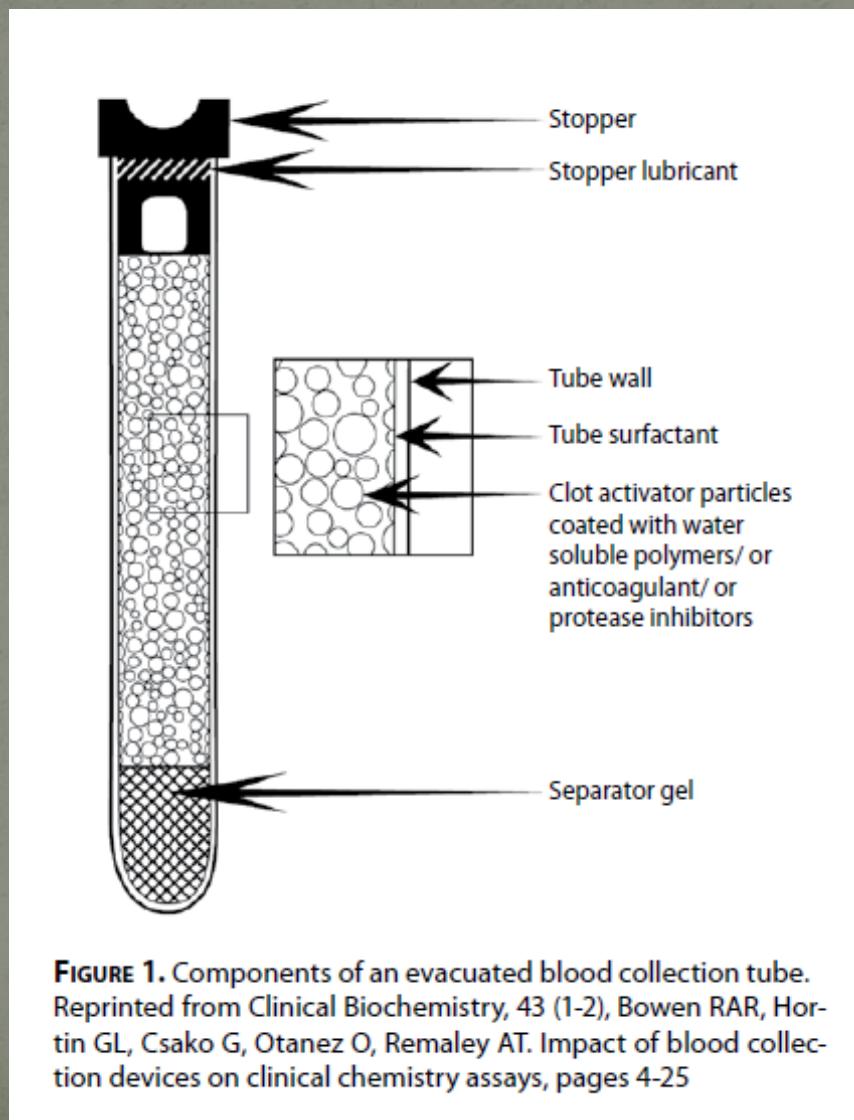
# UVOD

- Nerijetko laboratorijsko osoblje počne koristiti nove in vitro dijagnostičke uređaje (npr. epruvete), bez (ili prije) validacije istih (tehnički, ekonomski razlozi)
-  nema procijene utjecaja novog uvoda na moguću promijenu u lab. nalazima i/ili ishoda bolesnika
- Postupak provjere valjanosti je bitan u akreditiranom laboratoriju medicini, **stoga se rijetko smatra pitanjem u prijeanalitičkom upravljanju**

# UTJECAJ EPRUVETA NA REZULTATE PRETRAGA

- Različite komponente epruveta, kao što su čepovi, maziva za čepove, površinski aktivna sredstva, gel separatori, aditivi mogu mijenjati stabilnost analita odnosno mogu utjecati na rezultate pretraga
- Zbog tih interakcija s uzorcima krvi, epruvete jesu/mogu biti potencijalni izvor pre-analitičke pogreške u laboratorijskom testiranju
- razumijevanje složenih interakcija između prikupljanja uzorka krvi i uređaja → pouzdan rezultat

# UTJECAJ EPRUVETA NA REZULTATE PRETRAGA



# MATRIJALI ZA IZRADU EPRUVETA

- U usporedbi sa stakлом, plastika minimizira izloženost biološki štetnim materijala (uslijed loma), ima veću otpornost na šok, tolerira veće brzine centrifugiranja, teži manje, lakše se zbrinjava poslije upotrebe
- Unatoč malim statistički značajnim razlikama u koncentracijama analita mjerenih u plastičnim i staklenim epruveta razlika nije bila klinički značajna

# ČEPOVI

- Obično su obojeni ovisno o vrsti antikoagulacijskog sredstva
- Mogućnost lakog bušenja iglom i vađenja igle van održavajući unutarnju razliku tlaka

# SREDSTVA ZA PODMAZIVANJE ČEPOVA

- silikonska ulja, tekućine i glicerol, olakšavaju umetanje i uklanjanje čepova
- Maziva minimiziraju prijanjanje crvenih krvnih stanica i ugruška na čepove kako bi se spriječilo onečišćenje seruma ili plazma

# ANTIKOAGULANSI

- Iako se serum koristi za određivanje većine analita, plazma je korisna alternativa zbog brzog vremena obrade
- Antikoagulansi koji se koriste za očuvanje analita mogu ometati druge analite
- Etilendiaminotetraoctena kiseline (EDTA), heparin i citrat su najčešće korišteni antikoagulansi

# GEL SEPARATOR

- Odvajaju serum od ugruška i plazmu od stanica
- Utjecaj temperature, brzine centrifugiranja, skladištenje st
- Čimbenici od strane pacijenta, kao što je heparinska terapija, hematokrit, povišene razine proteina

# AKTIVATORI ZGRUŠAVANJA

- Koriste unutarnji ili vanjski put zgrušavanja
- Silikatne tvari (npr. staklo, silicijev dioksid, kaolin, bentonit, dijatomejska zemlja) ubrzavaju formiranje ugrušaka putem kontaktne aktivacije (relativno sporo - 30 do 60 minuta)
- Elaginska kiselina, trombin, zmijski otrova, tromboplastin) ubrzavaju formiranje ugrušaka putem biokemijskih reakcija (brzo zgrušavanje - 10 do 20 minuta)

# POVRŠINSKI AKTIVNE TVARI

- Obično se koriste da smanje nespecifičnu adsorpciju, ali moraju biti pažljivo odabrani i optimizirani za imunokemijske metode (uzrokuju gubitak antitijela)
- Voditelj laboratorija trebao bi standardizirati postupke i redovito procjenjivati kvalitetu *in vitro* dijagnostičkih uređaja

- Verifikacija prema vlastitim unaprijed definiranim kriterijima ili podatci iz literature/specifikacije proizvođača
- Verifikacija treba obuhvatiti sve vrste metoda na svim dostupnim analizatorima na kojima se određuju pretrage iz ispitivanih epruveta (spektrofotometrija, turbidimetrija, indirektna potenciometrija, osmolalnost)
- CLSI smjernice

- Cilj verifikacije epruveta je ispitati jesu li rezultati dobiveni iz uzorka u novim, ispitivanim epruvetama usporedivi s rezultatima iz kontrolnih epruveta
- Potrebno je **izračunati razlike u rezultatima u području vrijednosti kliničke odluke**
- Razlika u rezultatima između kontrolnih i ispitivanih epruveta koja je statistički značajna ne mora nužno značiti da su novije epruvete lošije u odnosu na stare
- **Dvije se vrste epruveta smatraju klinički istovjetnima ako razlika u rezultatima ne utječe na dijagnozu, praćenje bolesnika ili odabir terapije**

# VERIFIKACIJA Glucomedics EPRUVETA

- Glukoza - najčešće mjereni analit u laboratoriju
- Identifikacija hiperglikemije → dijagnoza dijabetesa
- Gubitak glukoze kroz proces glikolize (*ex vivo*)
- ADA → promptno stavljanje uzorka na ledenu kašu ili odmah odvojiti plazmu od stanica
- Upotreba epruveta sa raznim dodatcima koji stabiliziraju koncentraciju glukoze u krvi

# HIPOTEZA

- Povišena koncentracija glukoze u Glucomedics epruvetama (trenutno djelovanje aditiva koje sadrže) u odnosu na dosad korištene NaF/KOx epruvete

# CILJEVI

- 1. Ispitati jesu li rezultati dobiveni iz Glucomedics epruveta usporedivi sa rezultatima iz NaF/KOx**
- 2. Utjecaj rezultata na dijagnozu GD s obzirom na promjenu u broju pozitivnih rezultata**

# MATERIJALI & METODE

- Od listopada do prosinca 2014, 97 uzoraka venske krvi na populaciji trudnica
- Screening test za gestacijski dijabetes (OGTT prema IADPSG preporukama)
- Uzorkovanje krvi je izvršeno tri puta (0h, te 1h i 2h nakon opterećenja) direktno u dvije različite epruvete:

I: BD Vacutainer® NaF/K<sub>2</sub>oksalat

II: Vacuette® Glucomedics Na<sub>2</sub>EDTA/NaF/Na citrat-citratna kiselina (Greiner Bio-one)

# MATERIJALI & METODE

- Krvi su odmah centrifugirane (1800xg, 10 min pri 20°C) → određivanje koncentracije glukoze (Beckman Coulter AU 2700, heksokinazna metoda)
- Uzorci analizirani jednom u istoj seriji
- Korekcijski faktor za Glucomedics 1.16 (prema proizvođaču)

# REZULTATI

Parametar/ vrijeme	NaF/KOx (N=97)	Glucomedics (N=97)	Odstupanje (%)	Poželjno odstupanje (%)	P
GUK/oh (mmol/L)	<b>4.8 (4.6-5.1)</b>	<b>5.2 (5.1-5.7)</b>	<b>8.3</b>	<b>≤ 2.2</b>	<b>&lt;0.001</b>
GUK/1h (mmol/L)	<b>7.1 (6.0-8.3)</b>	<b>7.7(6.5-9.3)</b>	<b>8.4</b>	<b>≤ 2.2</b>	<b>&lt;0.001</b>
GUK/2h (mmol/L)	<b>5.9 (5.0-6.6)</b>	<b>6.6(5.5-7.2)</b>	<b>11.8</b>	<b>≤ 2.2</b>	<b>&lt;0.001</b>

# REZULTATI

Vrijeme uzorkovanja (sati)	Broj postavljenih dijagnoza prema IADPSG kriteriju		
	NaF/KOx	Glucomedics	P
0 – natašte	26	74	<0.001
1 sat iza opterećenja	10 (9)*	16 (13)*	0.048
2 sata iza opterećenja	6*	7*	0.370

\* Iste osobe koje su već bile pozitivne u prvoj točki mjerena

# REZULTATI

Uspoređeni parovi rezultata	Razlika* (%)	P
NaF/Kox:Glucomedics x 1.16	49.3	<0.001
NaF/Kox:Glucomedics x 1.11	8.9	0.031

\*Predstavlja razliku u pozitivnim testovima (sva tri mjerenja)

# ZAKLJUČAK

- Rezultati nisu usporedivi (klinički značajna razlika)
- 50% više dijagnosticiranog GDM koristeći Glucomedics epruvete

# REFERENCE

- 1. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, et al. Preanalytical management: serum vacuum tubes validation for routine clinical chemistry. *Biochem Med* 2012;22:180-186.
- 2. Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Lippi G, et al. Quality management of preanalytical phase: impact of lithium heparin vacuum tubes changes on clinical chemistry tests *Accredit Qual Assur* 2013;18:429-434.
- 3. ISO Medical Laboratories- Particular requirements for quality and competence for ISO 15189. 2 ed 2007.
- 4. Bowen RA, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochem Med* 2014;24:31-44.
- 5. Dimecki G, Yow KS, Brown NN. What is the most suitable blood collection tube for glucose estimation? *Ann Clin Biochem* 2014;52:270-275.
- 6. Nikolac N. The impact of preanalytical factors on glucose concentration measurement. *Bioch Med* 2014;24:S41-44.
- 7. Tizziani T, Siebert DA, Pancotte T, et al. Effect of addition of sodium citrate in plasma extraction for venous blood glucose determination. *Int J Clin Med* 2014;5:625-629.

- 8. Gambino R, Bruns DE. Stabilization of glucose in blood samples: out with the old, in with the new. *Clin Chem Lab Med* 2013;1-3.
- 9. Fobker M. Stability of glucose in plasma with different anticoagulants. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:1057-1060.
- 10. Chan H, Lunt H, Thompson H, et al. Plasma glucose measurement in diabetes: impact and implications of variations in sample collection procedures with a focus on the first hour after sample collection. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:1061-1068.
- 11. Ridefelt P, Åkerfeldt T, Helmersson-Karlqvist J. Increased plasma glucose levels after change of recommendation from NaF to citrate blood collection tubes. *Clin Biochem* 2014;47:625-628.
- 12. Bruns DE, Knowler WC. Stabilization of glucose in blood samples: why it matters. *Clin Chem* 2009;55:850-852.
- 13. Bruns DE. Are fluoride-containing blood tubes still needed for glucose testing? *Clin Biochem* 2013;46:289-290.
- 14. Del Pino IG, Constanso I, Mourín LV, et al. Citric/citrate buffer: an effective antiglycolytic agent. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:1943-1949.

- 15. Turchiano M, Nguyen C, Fierman A, et al. Impact of blood sample collection and processing methods on glucose levels in community outreach studies. *J Environ Public Health* 2013;2013:256151
- 16. Fernandez L, Jee P, Klein MJ, et al. A comparison of glucose concentration in paired specimens collected in serum separator and fluoride/potassium oxalate blood collection tubes under survey ‘field’ conditions. *Clin Biochem* 2013;46:285–288
- 17. Gambino R. Sodium fluoride: an ineffective inhibitor of glycolysis. *Ann Clin Biochem* 2013;50:3–5.
- 18. Norman M, Jones I. The shift from fluoride/oxalate to acid citrate/fluoride blood collection tubes for glucose testing — The impact upon patient results. *Clin Biochem* 2014;47:683–685.
- 19. Waring WS, Evans LE, Kirkpatrick CT. Glycolysis inhibitors negatively bias blood glucose measurements: potential impact on the reported prevalence of diabetes mellitus. *J Clin Pathol* 2007;60:820–823.
- 20. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011;34:e61–99.

- 21. IADPSG Consensus Panel. International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups Recommendations on the Diagnosis and Classification of Hyperglycaemia in Pregnancy. *Diabetes Care* 2010;33:676-682.
- 22. The HAPO Study Cooperative Research Group. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes. *N Engl J Med* 2008;358:1991-2002.
- 23. Peake MJ, Bruns DE, Sacks DB, et al. It's time for a better blood collection tube to improve the reliability of glucose results. *Diabetes Care* 2013;36:e2.
- 24. World Health Organization: Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy. WHO, 2013;1-63.
- 25. Ryan EA. Diagnosing gestational diabetes. *Diabetologia* 2011;54:480-486.
- 26. Juricic G, Kopcinovic LM, Saracevic A, et al. Liquid citrate acidification introduces significant glucose bias and leads to misclassification of patients with diabetes. *Clin Chem Lab Med*. Epub ahead of print 2 Jul 2015. DOI: 10.1515/cclm-2015-0358.
- 27. Ross G, Callaway LK. Testing for gestational diabetes mellitus in Australia. *Diabetes Care* 2013;36:e64
- 28. Noctor E, Dunne FP. Type 2 diabetes after gestational diabetes: the influence of changing diagnostic criteria. *World J Diabetes*, 2015;6:234-244.

HVALA NA  
PAŽNJI

