UTJECAJ PODVEZE NA ODREĐIVANJE IONIZIRANOG KALCIJA (iCa)

Opća bolnica Dubrovnik

Milčić A, Njire Bratičević M, Perović A

PREPORUKE

- CLSI A31-A2: Ionized Calcium Determinations: Precollection Variables, Specimen Choice, Collection, and Handling; Approved Guideline - Second Edition

- Nacionalne preporuke za uzorkovanje venske krvi

MATERIJALI I METODE

Dobrovoljni ispitanici (N=30)

↓

vađenje **bez podveze**

↓

vađenje uz korištenje podveze koja je **otpuštena odmah nakon što je krv potekla**

Dobrovoljni ispitanici (N=30)

↓

vađenje **bez podveze**

↓

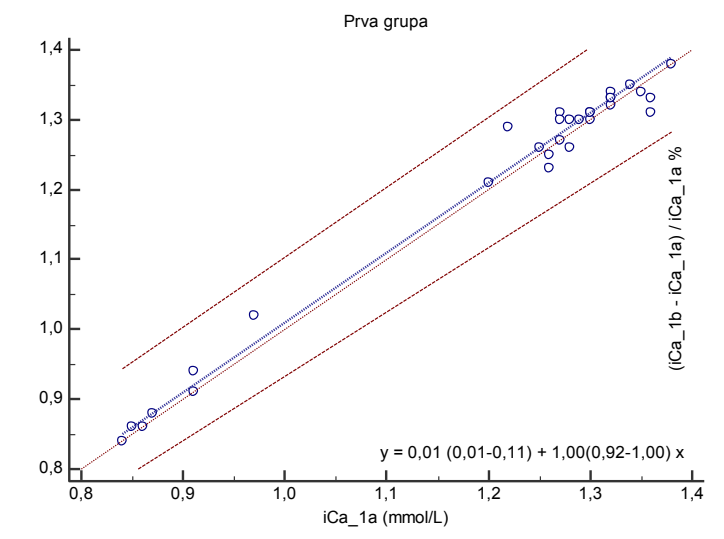
vađenje uz korištenje podveze koja je **otpuštena nakon što je spremnik napunjen do oznake**

- Svi spremnici bili su potpuno napunjeni, centrifugirani prema preporuci proizvođača te ostavljeni na sobnoj temperaturi do analize
- iCa određivan je potenciometrijskom metodom na RapidLab348EX
- Klinički značajna razlika procjenjena je prema RiliBÄK-u

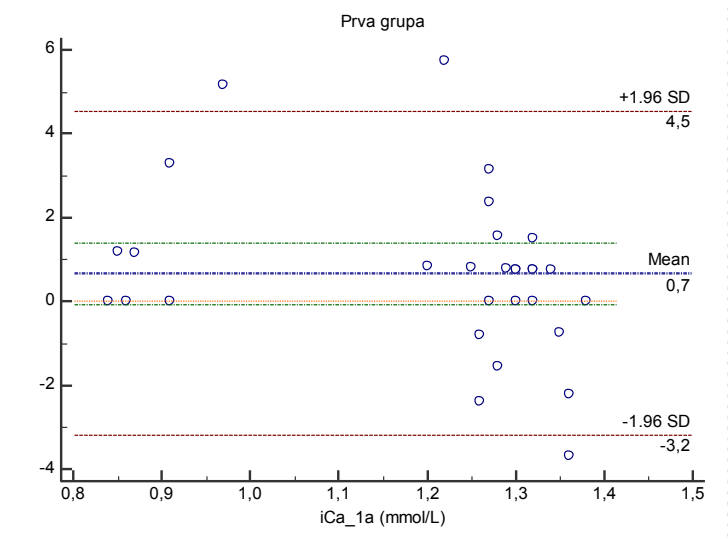
REZULTATI

1a- bez podveze

1b- s podvezom



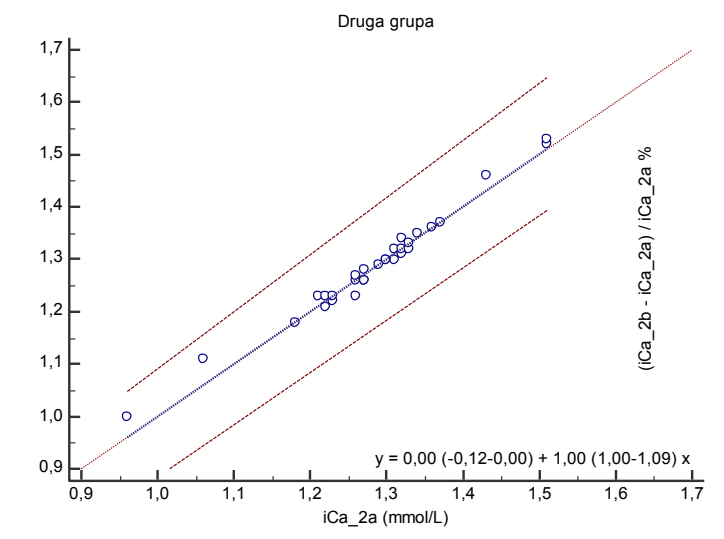
Slika 1. Passing-Bablok regresijska analiza usporedbe između uzoraka uzorkovanih bez podveze i s podvezom koja je otpuštena odmah nakon što je krv potekla



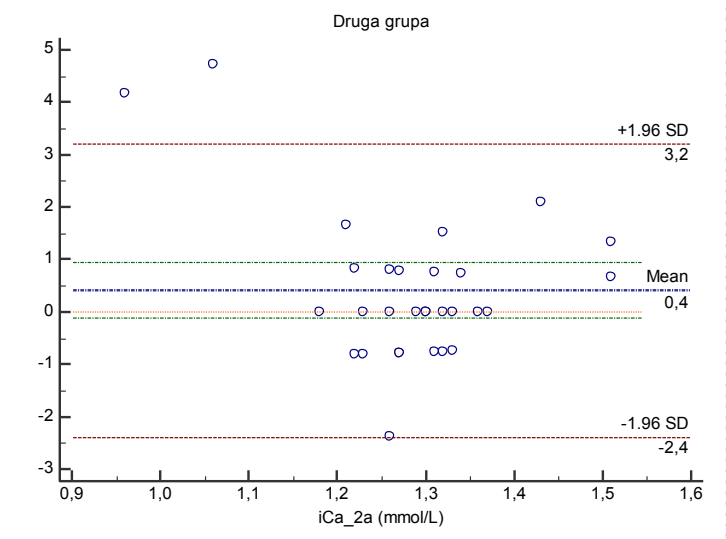
Slika 2. Bland-Altmanov prikaz usporedbe između uzoraka uzorkovanih bez podveze i s podvezom koja je otpuštena odmah nakon što je krv potekla

1a- bez podveze

1b- s podvezom

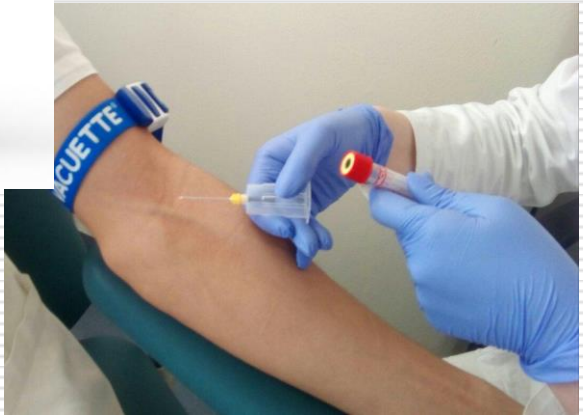


Slika 3. Passing-Bablok regresijska analiza usporedbe između uzoraka uzorkovanih bez podveze i s podvezom koja je otpuštena tek nakon što je spremnik u potpunosti napunjen



Slika 4. Bland-Altmanov prikaz usporedbe između uzoraka uzorkovanih bez podveze i s podvezom koja je otpuštena tek nakon što je spremnik u potpunosti napunjen

ZAKLJUČAK



- Nema kliničke značajne razlike između uzoraka uzorkovanih s i bez korištenja podveze

4th EFLM-BD
European Conference on Preanalytical Phase
Improving quality in the preanalytical phase through innovation

AMSTERDAM
24 -25 March 2017

MELANIN KAO PREDANALITIČKI FAKTOR ODGOVORAN ZA NEUSPJELE PCR ANALIZE BRAF MUTACIJA

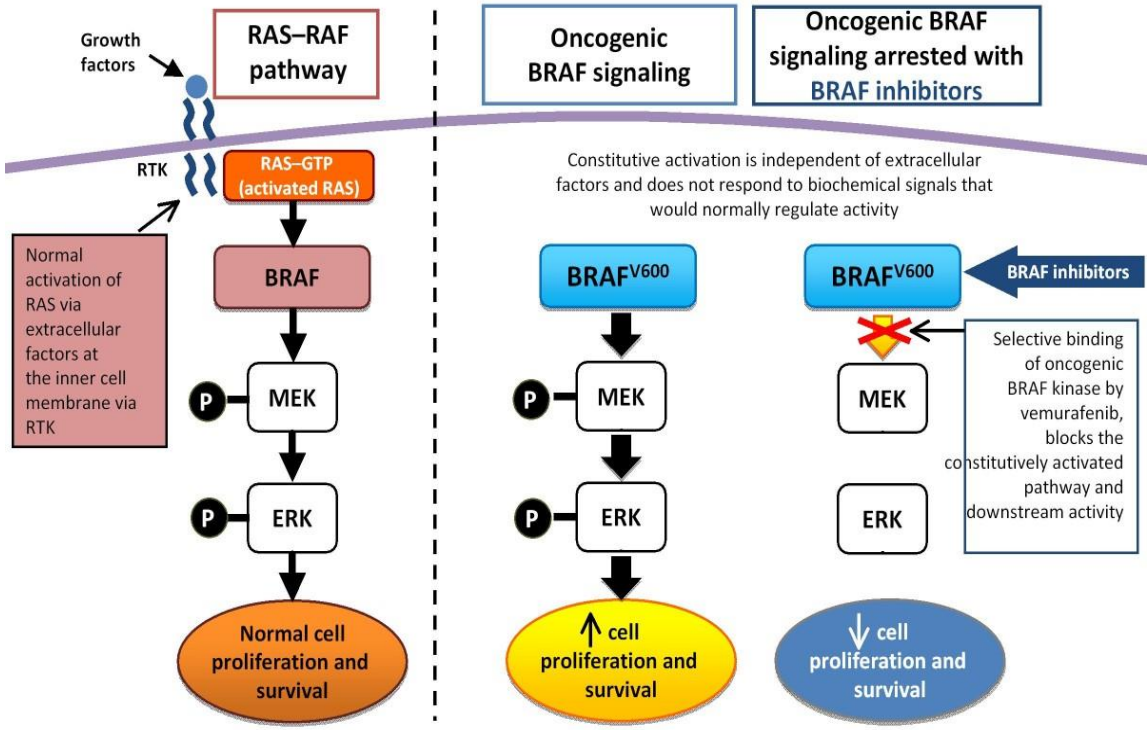
Kožaj S, Ulamec M, Vučić M, Bukovec Megla Ž, Bolanča A, Šamija I

Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu

KBC Sestre milosrdnice

UVOD

- BRAF
  - Protoonkogen
  - 7q34
  - Serin/treonin protein kinaza
  - RAS/RAF/MEK/MAPK

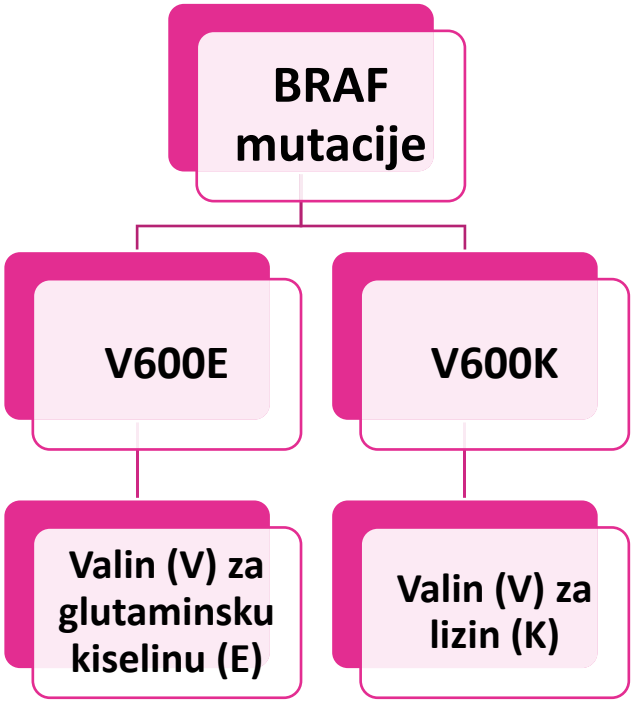


Oncogenic BRAF signaling pathway. RTK: receptor tyrosine kinase.

Ascierto et al.: The role of BRAF V600 mutation in melanoma. Journal of Translational Medicine 2012 10:85.

UVOD

- **BRAF mutacije** – prognostički biljezi kod pacijenata s metastatskim melanomom za ciljanu terapiju BRAF inhibitorima



- Uzorci melanoma mogu biti izrazito pigmentirani s obiljem **melanina**

Inhibitor lančane reakcije polimerazom

MATERIJALI I METODE

Vrsta uzorka

- tumorsko tkivo fiksirano u formalinu i uklopljeno u parafin (eng. *Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded* –FFPE)

Izolacija DNA

- QIAamp DNA FFPE Tissue, Qiagen

Real-time PCR

- 7500 Real Time PCR System, Applied Biosystems

Statistička analiza

- Mann-Whitney U test
- χ^2 test

REZULTATI

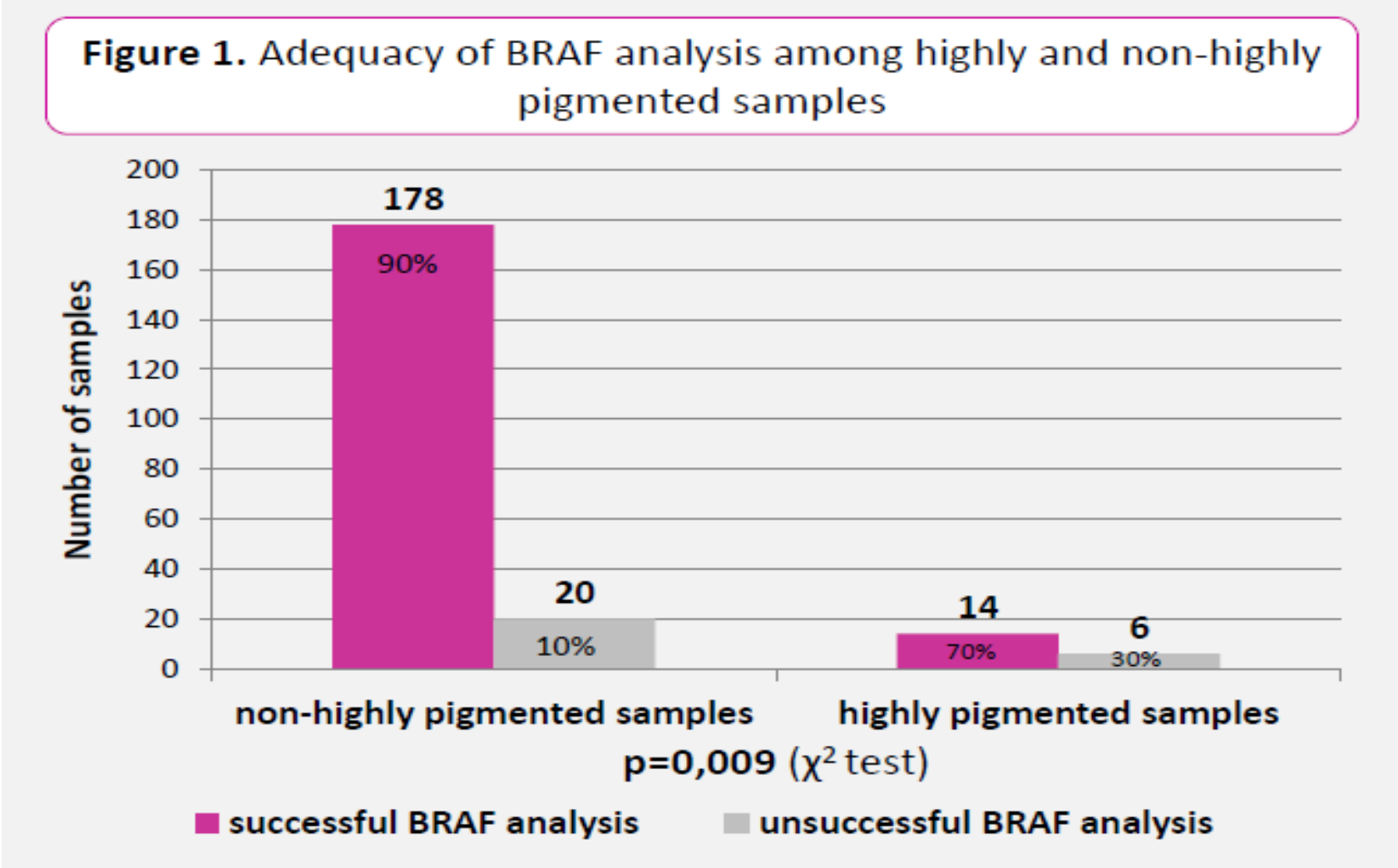


Figure 1. Adequacy of BRAF analysis among highly and non-highly pigmented samples
Number of samples
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
178
90%
20
10%
14
70%
6
30%
non-highly pigmented samples
highly pigmented samples
p=0,009 (χ2 test)
successful BRAF analysis
unsuccessful BRAF analysis

REZULTATI

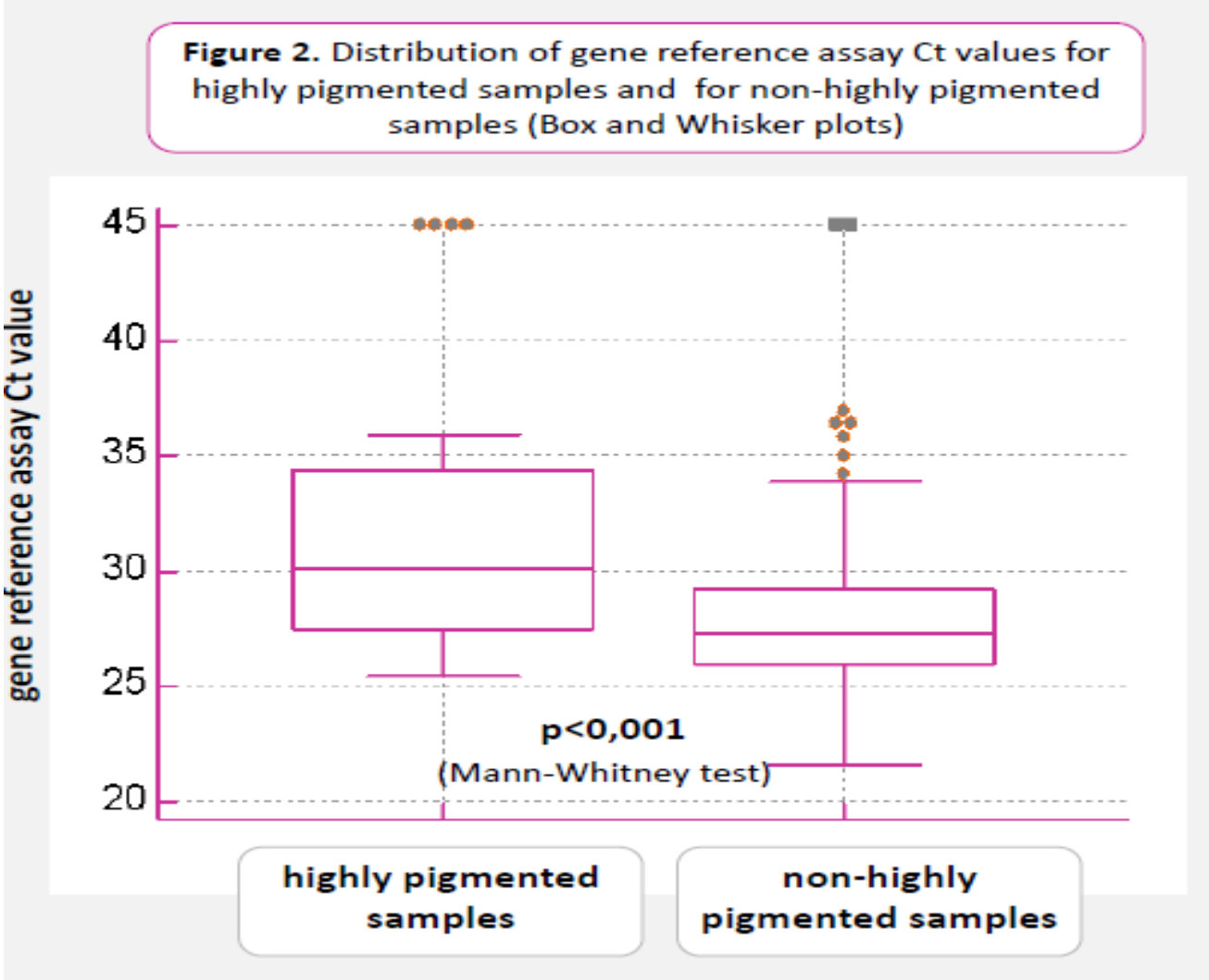


Figure 2. Distribution of gene reference assay Ct values for highly pigmented samples and for non-highly pigmented samples (Box and Whisker plots)

ZAKLJUČAK

- Prisutnost obilja melanina u uzorcima melanoma može biti uzrok neuspjelog PCR-a BRAF mutacija

- Jedno od rješenja: razrjeđenje uzoraka DNA koje se dodaje u PCR reakciju

4th EFLM-BD
European Conference on Preanalytical Phase
Improving quality in the preanalytical phase through innovation

AMSTERDAM
24 -25 March 2017

Stabilnost kalija, natrija, klorida i indeksa hemolize u uzorku seruma neodvojenog od stanica tijekom 8 sati

Tina Brenčić, OB Pula

Ana-Maria Šimundić, KB Sveti Duh Zagreb

- Koliko dugo je pojedina mjerena veličina stabilna u serumu neodvojenom od stanica?

- Produljeni kontakt seruma i krvnog ugruška - jedan od uzroka predanalitičke varijacije

- PREPORUKE: serum/plazmu čim prije odvojiti od stanica

HRVATSKA KOMORA
MEDICINSKIH BIOKEMIČARA

KOMORA | OPĆI AKTI | POVJERENSTVA | OBRASCI | OBAVIJESTI | TEČAJEVI | PREPORUKE | KONTAKT

::: Dozvoljena vremena od uzimanja uzorka do analize

- dozvoljeno vrijeme od uzimanja uzorka krvi do analize općih biokemijskih pretraga je 6 sati[1]
- dozvoljeno vrijeme od uzimanja uzorka mokraće za kvalitativnu analizu do pregleda je 2 sata (najkasnije 4 sata)[2]
- dozvoljeno vrijeme od uzimanja uzorka krvi do određivanja sedimentacije eritrocita je 2 sata[3]
- dozvoljeno vrijeme od uzimanja uzorka krvi do analize kompletne krvne slike je 6 sati[3]
- dozvoljeno vrijeme od uzimanja uzorka krvi do pripreme krvnog razmaza je 6 sati[3]
- dozvoljeno vrijeme od uzimanja uzorka krvi do analize koagulacijskih pretraga je 4 sata[4]

1 Preporuka Povjerenstva za stručna pitanja HKMB
2 Kouri T, Fogazzi G, Gant V, Hallander H, Hofmann W, Guder WG. European urinalysis quidelines. ECLM - European Urinalysis Group: Scand J Clin Lab Invest 2000;60(Suppl 231): 1-96.
3 Guder WG, Ehret W, Da Fonseca-Wollheim F, Heil W, Müller-Plathe O, Schmitt Y, Töpfer G, Wisser H, Zawta B. The Quality of Diagnostic Samples. (CD) Copyright a 1996-2003. Chronolab AG.
4 NCCLS: Collection, transport and processing of blood specimens for coagulation testing and general performance of coagulation assays, approved guidelines, 3 rd edn (H21-A3). Wayne , PA : NCCLS; December 1998.

Materijali i metode

STABILNOST KALIJA, NATRIJA, KLORIDA I INDEKSA HEMOLIZE

50 venskih seruma bolničkih pacijenata neodvojenih od stanica

Serumska epruveta bez gel separatora (Greiner Bio-one)

Vrijeme: 8 sati

Analiza: biokemijski analizator ARCHITECT c8000 (Abbott)

Temperatura okoliša u radnoj prostoriji bilježena je na početku radnog dana te u točkama: 2, 4, 6 i 8 sati od primarnog određivanja

Protokol

PRIMARNA EPRUVETA!!!

t=0	• Početno mjerenje, određivanje mjerenih veličina zahtjevom liječnika
t=2	• Mjerenje 2 sata od prvotnog određivanja mjerenih veličina
t=4	• Mjerenje 4 sata od prvotnog određivanja mjerenih veličina
t=6	• Mjerenje 6 sati od prvotnog određivanja mjerenih veličina
t=8	• Mjerenje 8 sati od prvotnog određivanja mjerenih veličina

MJERENE VELIČINE:

- Kalij
- Natrij
- Kloridi
- Indeks hemolize

Statistička obrada podataka

- Normalnost razdiobe: Kolmogorov-Smirnov test

Statistički značajna P-vrijednost <0,05!

	NORMALNA RAZDIOBA	NE-NORMALNA RAZDIOBA
Prikaz podataka:	Srednja vrijednost i standardna devijacija	Medijan i interkvartilni raspon
Statistički test:	RM ANOVA	Friedman ANOVA

- **Odstupanje (%)=** $\frac{koncentacija\ u\ određenom\ trenutku - početna\ koncentracija}{početna\ koncentracija}$ *100

Kriterij prihvatljivosti

Poželjne specifikacije za nepreciznost temeljenim na biološkoj varijabilnosti

Poželjne specifikacije za ukupnu pogrešku temeljenim na biološkoj varijabilnosti

Izračunat je postotak pacijenata koji u određenoj vremenskoj točki nije zadovoljio postavljene kriterije.

Rezultati su smatrani prihvatljivima ukoliko je u pojedinoj točki >90% pacijenata zadovoljilo postavljene kriterije.

DE GRUYTER Clin Chem Lab Med 2016; aop

Opinion Paper

Ferruccio Ceriotti*, Pilar Fernandez-Calle, George G. Klee, Gunnar Nordin, Sverre Sandberg, Thomas Streichert, Joan-Lluis Vives-Corrons and Mauro Panteghini, on behalf of the EFLM Task and Finish Group on Allocation of laboratory tests to different models for performance specifications (TFG-DM)

Criteria for assigning laboratory measurands to models for analytical performance specifications defined in the 1st EFLM Strategic Conference

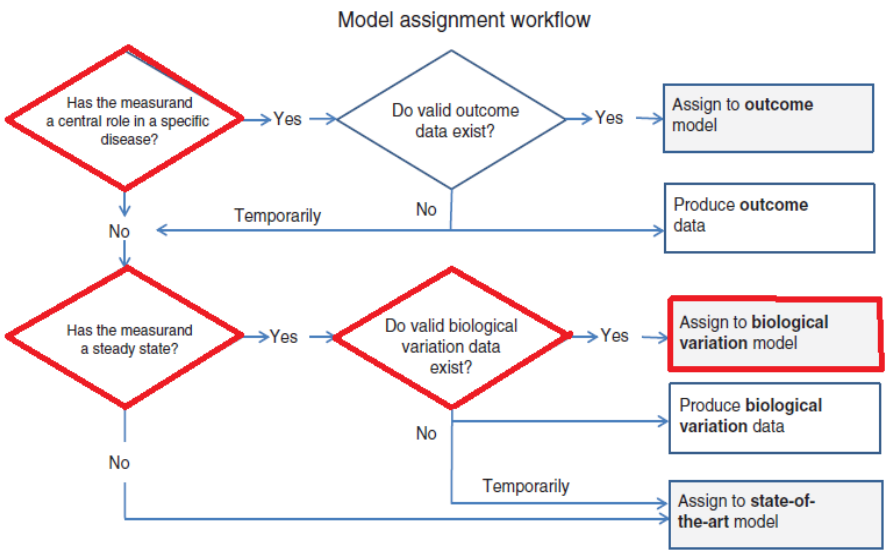


Figure 1: Workflow for assignment of a measurand to a defined analytical quality specification model.

vals, effect of undercurrent illness and effect of measurand concentrations. Basically, we can recognize two different situations:

1. the situation where a measurand has to be kept at a certain concentration level in the serum/plasma otherwise the body will suffer and we will get symptoms (i.e. the measurands is under strict homeostatic control);
2. the situation where a measurand de facto has a stable concentration, but deviations from this concentration will not in itself cause symptoms.

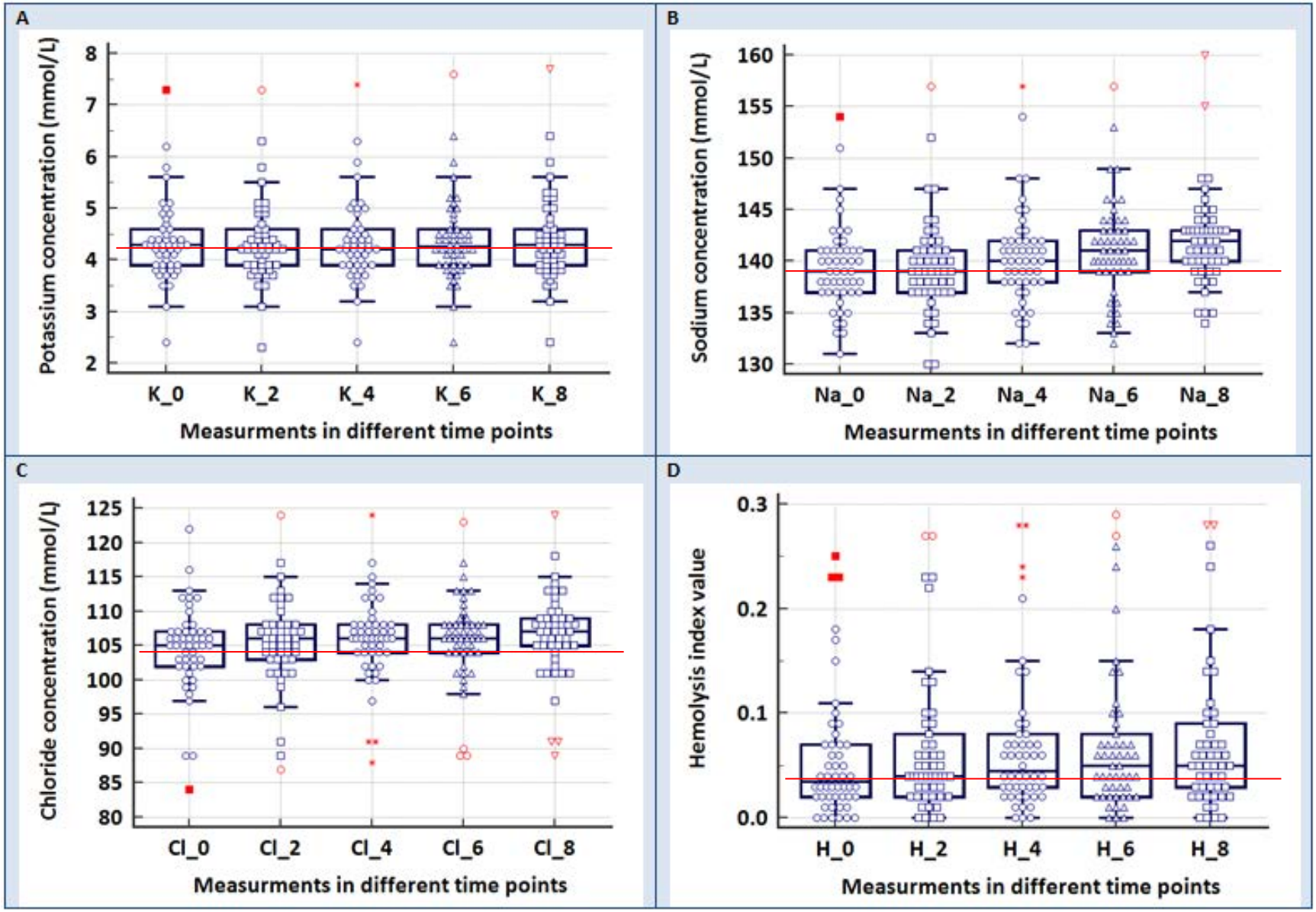
Both within- and between-subject BVs are important to set APS, taking into account variability components related

Rezultati

Temperatura:
24,8 (21,8-25,7) ˚C

Početne koncentracije mjerenih veličina:

K	• 4.3 (2.4-7.3) mmol/L
Na	• 139 ± 4 mmol/L
Cl	• 105 ± 6 mmol/L
HI	• 0.035 (0-0.25)


A
Potassium concentration (mmol/L)
8
7
6
5
4
3
2
K_0
K_2
K_4
K_6
K_8
Measurments in different time points
B
Sodium concentration (mmol/L)
160
155
150
145
140
135
130
Na_0
Na_2
Na_4
Na_6
Na_8
Measurments in different time points
C
Chloride concentration (mmol/L)
125
120
115
110
105
100
95
90
85
80
Cl_0
Cl_2
Cl_4
Cl_6
Cl_8
Measurments in different time points
D
Hemolysis index value
0.3
0.2
0.1
0.0
H_0
H_2
H_4
H_6
H_8
Measurments in different time points

Postotak pacijenata koji nije zadovoljio postavljene kriterije u pojedinim vremenskim točkama

NEPRECIZNOST

	t=2	t=4	t=6	t=8	Kriterij
Kalij	2%	12%	28%	36%	2,30%
Natrij	35%	67%	90%	94%	0,30%
Kloridi	54%	72%	86%	90%	0,60%
Indeks hemolize	30%	30%	38%	46%	14,93% *

***Kriterij** * - preciznost metode temeljena na vlastitim rezultatima*

UKUPNA POGREŠKA

	t=2	t=4	t=6	t=8	Kriterij
Kalij	0%	0%	2%	6%	5,61%
Natrij	10%	31%	59%	78%	0,73%
Kloridi	28%	42%	40%	68%	1,50%

Zaključci

- Do klinički značajne promjene koncentracije kalija, natrija i klorida dolazi već **2 sata od uzorkovanja**, ukoliko se određivanje vrši u **primarnoj epruveti** pohranjenoj na **sobnoj temperaturi**

- Porast indeksa hemolize tijekom 8 sati pohrane uzorka seruma u primarnoj epruveti

HD MBLM

Hvala na pozornosti!

4th EFLM-BD
European Conference on Preanalytical Phase
Improving quality in the preanalytical phase through innovation

AMSTERDAM
24 -25 March 2017