

# SERUMA KARŐI PLAZMADA BAZI ANALİTLERİN KARŐILAŐTIRILMASI

<sup>1</sup>Fatma Demet Arslan, <sup>1</sup>İnanç Karakoyun, <sup>1</sup>Banu İőbilen Baőok, <sup>1</sup>Merve Zeytinli Akőit, <sup>1</sup>Anıl Baysoy, <sup>2</sup>Yasemin Kiliç Öztürk, <sup>2</sup>Yusuf Adnan Güçlü, <sup>1</sup>Can Duman,

<sup>1</sup>Tepecik Eđitim ve Araőtırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, İzmir

<sup>2</sup>Tepecik Eđitim ve Araőtırma Hastanesi, Palyatif Bakım Kliniđi, İzmir

- ▶ Biyokimyasal parametrelerin analizinde en yaygın kullanılan numune serumdur.
  
- ▶ Heparinli plazmanın avantajları
  - Pıhtılaşma için beklenmesi gerekmez
  - Santrifüj süresi daha azdır
  - Böylece “Turnaround time” azalır
  - İn vivo durumu daha gerçekçi yansıtır
  - Mikrofibrin kaynaklı interferans bulunmaz
  - Seruma oranla %15-20 daha fazla plazma elde edilir
  - Diabet mellitus tanı kriterleri olarak plazma değerleri kullanılır

- ▶ Serum kullanıldığı durumlarda;
  - Analitlerin jel içine absorpsiyonu
  - Jeldeki materyalin örneğe elüsyonu
  - Psödohiperkalemi

# Materyal ve metod

- ▶ Rastgele seçilmiş 24 hasta ve görünüşte sağlıklı 20 gönüllüden
- ▶ *Jelsiz katkısız cam (Referans tüp)*
  - (7 ml, BD Z, 13x100mm)
- ▶ *Jelli pıhtı aktivatörlü*
  - (5 ml, BD SST II Advance, 13x100mm)
- ▶ *Lityum heparinli*
  - (4 ml, BD LH (Lithium Heparin), 13x75 mm)
- ▶ *Bariyerli lityum heparinli*
  - (3 ml, BD Barricor LH Plasma, 13x75 mm)

- ▶ Gönüllülerden kan holder yardımı ile alındı.
- ▶ Örnekler pıhtılaşma için 30–45 dk bekledikten sonra, her bir tüp üreticinin önerdiği şartlara uygun santrifüj edildi.
- ▶ Seperatörsüz tüplerde serum ve plazma örnekleri analiz edilene kadar sekonder tüplere aktarıldı.
- ▶ Ayrılan serum ve plazmada gözle görünür hemoliz saptanmadı.

- ▶ Aynı gönüllüye ait 4 tüpteki analit ölçümü toplam 2 saat içinde gerçekleştirildi.
- ▶ 22 analit *AU5800* ve *UniCel DxI 800* (Beckman Coulter, Brea, CA) cihazlarında çift analiz edildi.

- ▶ Her bir tüp için görünüşte sağlıklı 20 gönüllüden alınan kanlarda her bir test için referans aralıklar doğrulandı.
- ▶ Her bir test için analitik CV değerleri

<i>Cihaz</i>		<i>CV<sub>Interassay</sub></i>	<i>CV<sub>Intrassay</sub></i>
<i>AU5800</i>	<i>Level 1-2</i>	<i>1.11-3.90</i>	<i>0.00-2.89</i>
<i>UniCel Dxl 800</i>	<i>Level 1-2</i>	<i>3.77-9.73</i>	<i>2.34-9.17</i>

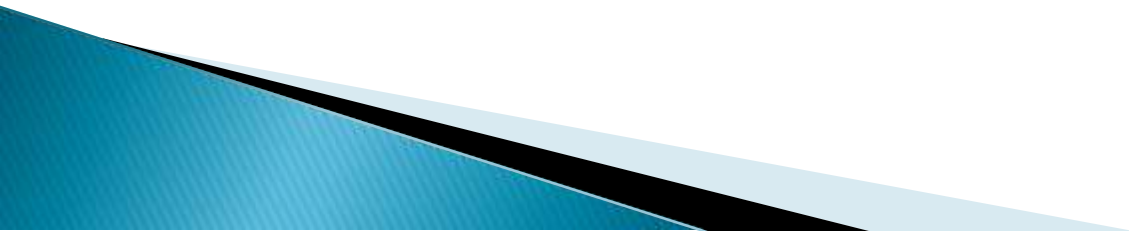
- ▶ Referans tüp, jelsiz katkısız tüp kabul edildi.
- ▶ Farklı tüplere alınmış kan örneklerindeki analit miktarlarının
  - İstatistiksel farkları normal dağılıma göre Wilcoxon ve paired T test ile değerlendirildi.
  - Referans tüp ile 3 karşılaştırma olduğu için  $p < 0.017$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.
  - Klinik anlamlılığı “Anlamlı Değişim Sınırı (significant change limit)” na ve “Kabul Edilebilir Biyolojik Varyasyona” göre değerlendirildi.



# Anlamlı değişim yöntemi

- ▶ Herbir analit için 6 aylık iç kalite kontrol verilerinin standart sapması (USD) alındı.
- ▶ Anlamlı değişim sınırı (SCL), referans tüp sonuçlarının ortalaması  $\pm 2.8$  USD olarak hesap edildi.
- ▶ Karşılaştırılan tüplerdeki analit konsantrasyon ortalaması SCL'nin dışına çıktığında klinik olarak anlamlı fark olduğu kabul edildi.

**BULGULAR**



# İstatistiksel fark ve Anlamlı değişim yöntemine göre değerlendirme

	-SCL	+SCL	Ortalama Cam tüp	Ortalama SST	Ortalama LH	Ortalama Barricor
ALBUMİN	3.68	4.37	4.02	4.02	4.02	4.03
ALP	88.8	119.3	104.1	103.6	100.8	100.0*
ALT	21.2	27.3	24.3	24.3	24.4	25.2*
AST	20.9	29.8	25.3	25.8	25.2	27.7
B12	267.9	374.3	321.1	324.1	318.6	320.9
CA	9.32	9.91	9.61	9.61	9.67	9.55
DBİL	-0.04	0.26	0.11	0.10	0.11	0.11
FOLAT	6.70	8.44	7.57	7.64	7.50	7.40
FT3	2.59	3.78	3.19	3.18	3.17	3.17
FT4	0.79	1.03	0.91	0.92	0.91	0.92
GGT	37.60	45.94	41.77	41.83	40.85	44.07*
GLUKOZ	108.3	118.0	113.1	113.2	113.8	109.5
K	4.09	4.53	4.31	4.35	4.00	4.10
KLOR	97.2	109.3	103.3	103.0	103.2	103.1
KREATİNİN	0.82	1.24	1.03*	1.03	1.03	1.03*
LDH	170.1	206.7	188.4	205.1	175.2	229.1
NA	132.7	150.3	141.5	140.4	140.7	140.9
TBİL	0.43	0.71	0.57	0.59	0.59	0.59
TPROTEİN	6.71	7.47	7.09	7.12	7.46	7.45
TSH	1.44	1.55	1.50	1.51*	1.53	1.51*
UA	4.51	6.34	5.42*	5.39*	5.50*	5.48*
URE	35.8	42.1	39.0	38.9	38.8	38.9

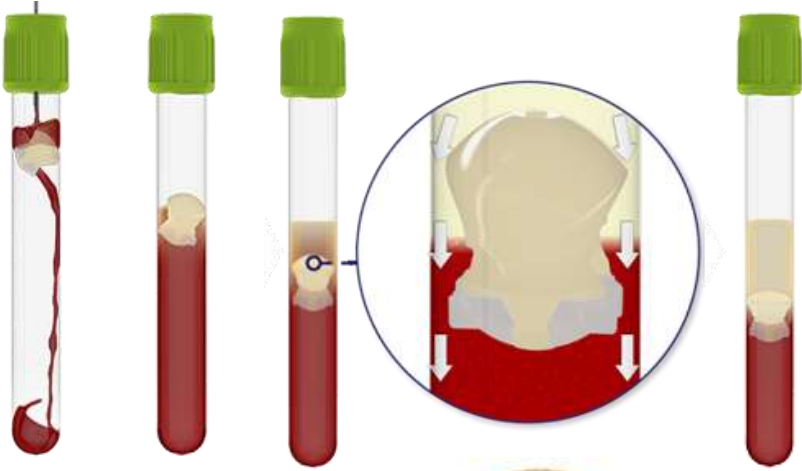
# Total hataya göre değerlendirme

	Total Hata	Bias Cam tüp vs SST	Bias Cam tüp vs LH	Bias Cam tüp vs Barricor
ALBUMİN	4,07	-0,14	-0,14	0,11
ALP	12,04	-0,46	-3,17	-3,92
ALT	27,48	0,09	0,56	4,05
AST	16,69	1,93	-0,45	9,19
B12	24,00*	0,92	-0,78	-0,07
CA	2,55	-0,05	0,54	-0,61
DBİL	44,50	-3,77	4,08	2,30
FOLAT	39,00	0,84	-0,95	-2,30
FT3	11,30	-0,16	-0,40	-0,63
FT4	8,00	0,75	-0,12	1,07
GGT	11,06	0,14	-2,20	5,51
GLUKOZ	6,96	0,03	0,62	-3,24
K	5,61	1,05	-7,05	-4,88
KLOR	1,50	-0,24	-0,06	-0,17
KREATİNİN	8,87	0,04	-0,18	0,27
LDH	11,40	8,85	-6,99	21,60
NA	0,73	-0,75	-0,55	-0,40
TBİL	26,94	3,19	3,39	4,39
TPROTEİN	3,63	0,34	5,18	5,03
TSH	7,80	0,71	1,96	0,83
UA	11,97	-0,54	1,55	1,03
URE	15,55	-0,20	-0,50	-0,26

\*Westgard JO, Smith EA, Mountain PJ, Boss S. Design and assessment of average of normals (AON) patient data algorithms to maximize run lengths for automatic process control. Clin Chem 1996;42:1683-1688.

•Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia L, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. Scand J Clin Lab Invest 1999;59:491-500. Updated in 2014.

- ▶ Plazma değerleri “anlamalı değişim sınırı” içinde olmasına rağmen; total hataya göre değerlendirildiğinde plazma **total protein, LDH ve K değerleri** seruma göre kabul edilebilir değildi.



# Santrifüj süresinin etkisi



Barricor tüp n=10	Ortalama	3 dk santrifüj*		Ortalama	10 dk santrifüj*		p
		Ortanca	%95 güven aralığı		Ortanca	%95 güven aralığı	
AST	27,9	23,0	18.5-33.4	28,0	22,5	19.0-33.4	0.687
K	4,38	4,34	4.05-4.99	4,31	4,24	4.06-4.89	0.084
LDH	212,4	200,0	185.6-240.4	218,2	210,0	186.7-242.4	0.131

•*Santrifüj devri: 2360 g*

Hemoliz indeksi pozitiflik saptanmadı (<50 mg/dl).

Çalışmamızda %2.7 oranında fark saptandı.

LDH üzerine %6,3 oranında santrifüjün etkisi olduğu bildirilmiştir (Müller, 2016).

$$rpm = \sqrt{\frac{RCF \times 10^5}{1.12 \times r}}$$

# Kan alma tekniğinin etkisi

	1.çalışma (n=44)				2.Çalışma (n=10)			
Ortalama	Ortanca	%95 güven aralığı	Bias Cam vs Barricor	p	Ortanca	%95 güven aralığı	Bias Cam vs Barricor	p
AST Barricor	25.0	22.0-27.5	9.19	0.000	24.0	19.4-35.0	-4.39	0.160
AST Cam	23.8	20.0-24.5			25.3	22.0-34.9		
K Barricor	4.13	4.00-4.22	-4.88	0.000	4.42	4.10-5.33	-6.81	0.002
K Cam	4.28	4.10-4.54			4.81	4.41-5.63		
LDH Barricor	217.0	198.2-251.4	21.60	0.000	173.8	157.4-185.0	-18.05	0.004
LDH Cam	170.5	154.6-211.3			200.0	186.5-238.6		

Hemoliz indeksi pozitiflik saptanmadı (<50 mg/dl).

	Total Hata	Bias Z vs SST	Bias Z vs LH	Bias Z vs Barricor
AST	16,69	1,93	-0,45	9,19
K	5,61	1,05	-7,05	-4,88
LDH	11,40	8,85	-6,99	21,60

# Bireysel farklılık

Barricor	Hasta (n=24)				Sağlıklı (n=20)				p
	Ortalama	Ortanca	%95 güven aralığı	Bias*	Ortalama	Ortanca	%95 güven aralığı	Bias*	
AST	29,5	25,0	22,5-28,0	10,6	25,5	23,0	20,2-30,7	7,4	0,715
K	4,00	4,07	3,89-4,19	-5,8	4,21	4,21	4,02-4,41	-3,8	0,053
LDH	239,5	223	190,6-257,4	25,3	217,7	209	178,4-250,9	16,3	0,429

\*Referans tüp vs Barricor



# TARTIŞMA

Literatür	Tüp	AST	K	LDH	Tprotein
Çalışmamızda	Serum vs plasma (Barricor)	9.2	-4.9	21.6	5.0
Er, 2006	Serum vs plasma (Lityum heparin jelli)	-0.9	-2.4	-3.9	ND
Miles, 2004	Serum vs plasma (Lityum heparin jelli)	ND	ND	21.4	ND
Herzum, 2003	Serum vs plasma (Lityum heparin)	ND	-6.0 -9.3	21 19	ND
Doumas, 1989	Serum vs plasma (Lityum heparin jelli)	28.1	-7.4	1.7	2.4
Lum, 1984	Serum vs plasma (Lityum heparin)	ND	ND	-0.7	ND
Hafkenscheid, 1980	Serum vs plasma (Lityum heparin)	-4.3	ND	ND	ND
Ladenson, 1974	Serum vs plasma (Lityum heparin)	ND	-8.4	2.7	4.0
Lum, 1973	Serum vs plasma (Lityum heparin)	0	-4.9	4.2	3.3

*ND: No data*

	Total Hata	Bias Cam vs SST	Bias Cam vs LH	Bias Cam vs Barricor
<b>AST</b>	16,69	1,93	-0,45	<b>9,19</b>
<b>K</b>	5,61	1,05	<b>-7,05</b>	-4,88
<b>LDH</b>	11,40	8,85	-6,99	<b>21,60</b>
<b>TPROTEİN</b>	3,63	0,34	<b>5,18</b>	<b>5,03</b>

# TARTIŞMA

- ▶ **T. protein**= Plazma fibrinojen içeriđi
- ▶ **K**= Pıhtılaşma esnasında hücrelerden salınımı ile ilgili olabilir. Özellikle kan trombosit düzeyleri veya trombosit fonksiyonu gibi kişisel özellikler ile ilişkili olabileceği belirtilmiŐtir. Benzeri nedenlerle K ölçümü için plazma örneği tavsiye edilmektedir.
- ▶ **AST**= Heparin konsantrasyonuna bağımlı olarak arttığını ileri sürmüşler.

▶ **LDH =**

- Yüksek plazma LDH düzeylerini *hücre sel kontaminasyon ile*
  - Yüksek serum LDH düzeylerini *pıhtılaşma esnasında hücrelerden salınımı* ile ilişkilendirmişlerdir.
- ▶ Bununla birlikte Herzum ve ark. ayrılan plazmada çok yüksek trombosit olmasına rağmen *kontaminasyonun LDH üzerine çok az etkili* olduğunu belirtmişlerdir.
- ▶ Bakker ve ark. LDH hataların plazmadan hücre eliminasyonunu sağlamak amacıyla yapılan *örnek hazırlama işlemi* ile ilgili olmadığını göstermişlerdir. Plazmanın *pıhtılaşma yokluğu* nedeniyle trombositlerden LDH salınımının azalttığı söylenmiştir.

# SONUÇ

- ▶ Referans tüp cam alınmakla birlikte laboratuvarımızda kullanılan jelli serum tüp ile kıyaslandığında bias düzeyleri daha düşük saptandı. Farklı kabul edilebilirlik düzeyleri (CLIA, CAP gibi) alınmış olsaydı bu fark kabul edilebilir olacaktı.
- ▶ Son yıllarda bazı avantajları nedeniyle plazma matriksi kullanımı öne çıkmaktadır. Bununla birlikte çalışmamızda plazma *total protein, LDH ve K düzeyleri seruma kıyasla klinik açıdan farklı olduğundan plazma düzeyleri için uygun referans aralık oluşturulması gereklidir.*

# SABRINIZ İÇİN TEŞEKKÜR EDERİM

