



ACTH Ölçümünde Örnek Stabilitesi Ve Diğer Preanalitik Etkenler

Doç. Dr. Oytun Portakal

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ DOKTOR

- Hatalı istem

HPA aksı

hipotalamus

hipofiz

ACTH

Adrenal
Korteks

KORTİZOL

Hipofizer ACTH
hipersekrezyonuna bağlı
Cushing: plazma ACTH
normal veya yüksektir.

Glukokortikoid sekrete edici
adrenal tümöre bağlı Cushing:
Plazma ACTH baskılanır:
<5 pg/mL

Hipofizer ACTH eksikliği/
sekonder hipoadrenalizm:
plazma ACTH düşüktür:
<10 pg/mL

Primer adrenal yetmezlik:
Plazma ACTH yüksektir.

Ektopik ACTH sendromu:
Plazma ACTH çok yüksektir
500-1000 pg/mL/ Cushing ile
çakışabilir.

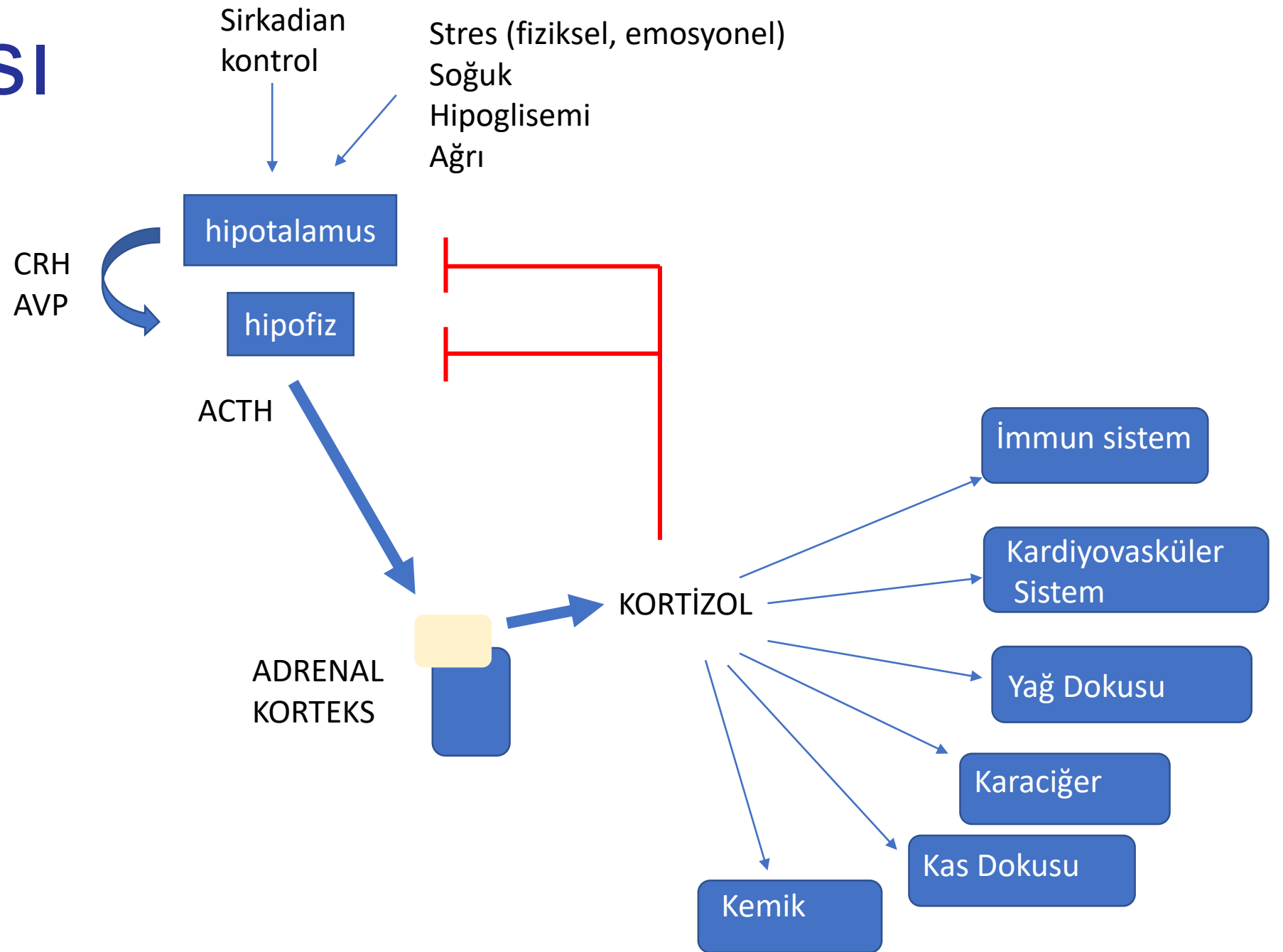
KAH de:
Plazma ACTH
yüksektir; tanı ve
takipte kullanılır.

ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ HASTA

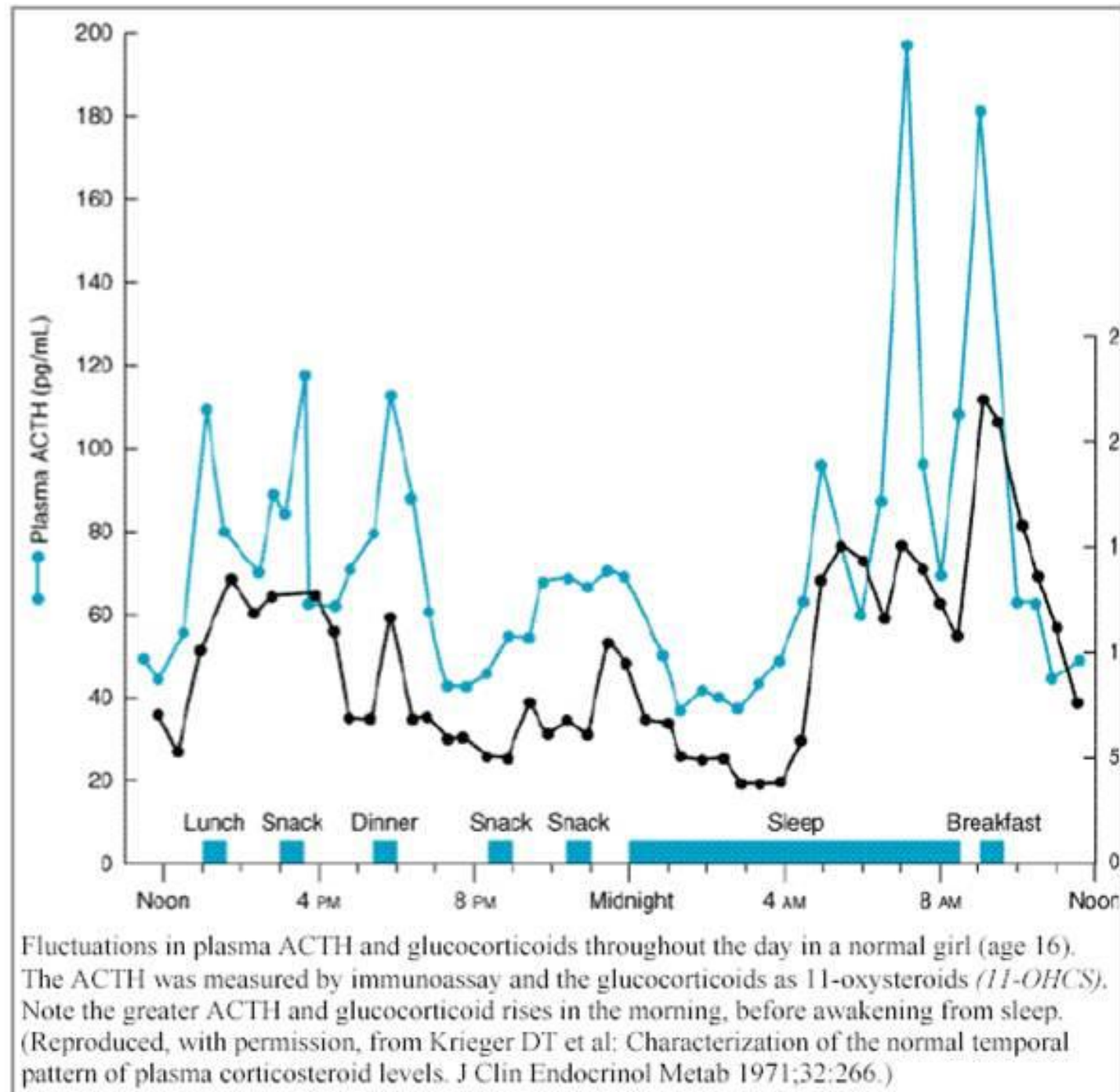
Biyolojik varyasyon ve çevresel koşullar

- Sirkadien ritim
- Egzersiz
- Yaş

HPA aksı



Sirkadien ritim



ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ ÖRNEK ALMA

- Standart değil



ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ TÜPLER

- plazma örnekleri
- EDTA -tüpler
- soğuk olması tercih edilir



ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ TRANSPORT

Uyulması gereken bazı noktalar:

- buz üstünde transport
- laboratuvara 30 dakika içinde ulaşması
- sıcaklığa maruz kalmaması



ACTH

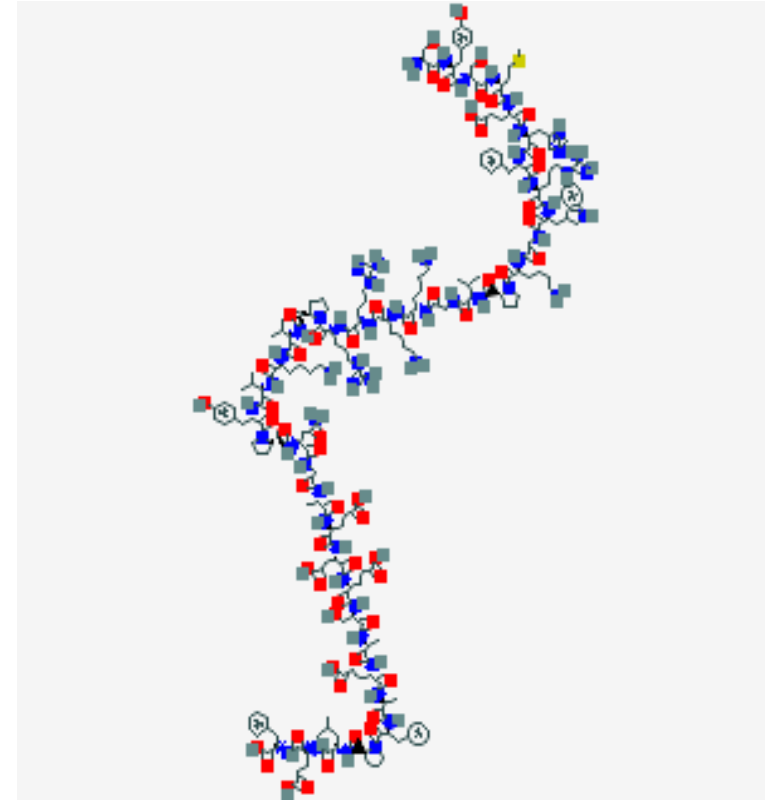
Tropik peptid hormon

H—Ser — Tyr — Ser — Met — Glu — His — Phe — Arg — Trp — Gly

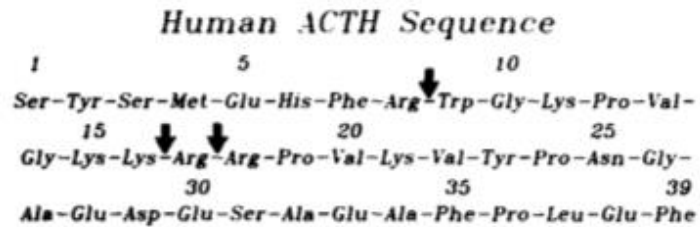
Lys — Pro — Val — Gly — Lys — Lys — Arg — Arg — Pro — Val

Lys — Val — Tyr — Pro — Asn — Gly — Ala — Glu — Asp — Glu

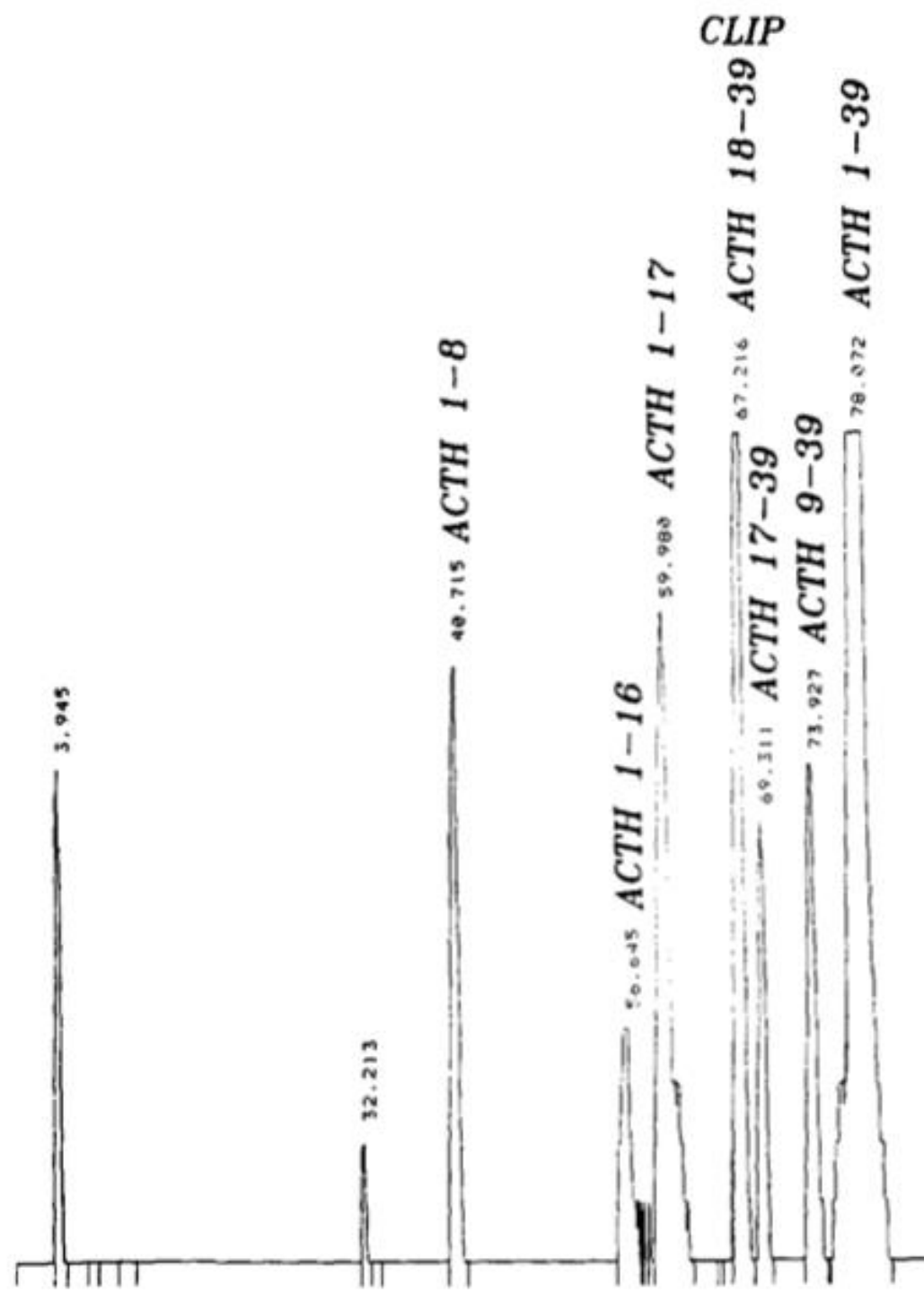
Ser — Ala — Glu — Ala — Phe — Pro — Leu — Glu — Phe—OH



ACTH- Proteolitik Yıkım



Reverse-phase HPLC of the reaction products of ¹²⁵I-labeled ACTH(1-39) with IRCM-serine protease 1 at pH 8.0.



Cromlish JA. J. Biol. Chem. 1996; 261(23): 10859-70.

Plazma ACTH'ın biyolojik yarı ömrü çok kısadır :10-15 dk

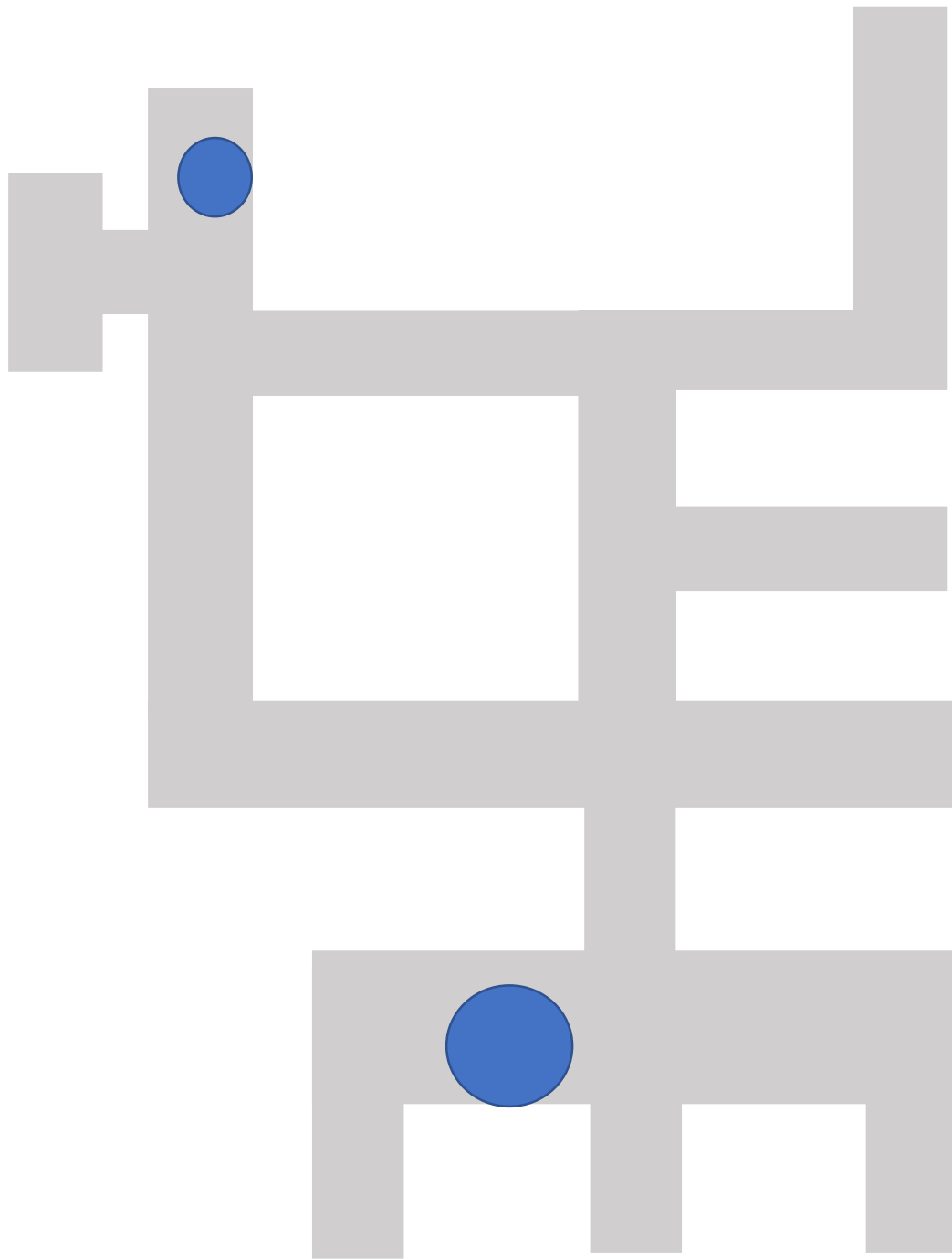
hasta örneklerinin:

- soğuk EDTA'lı tüpe alınması,
- laboratuvara buz üzerinde taşınması,
- laboratuvara 30 dakika içinde ulaşması,
- hemen soğuk santrifüjde plazması ayrılması,
- ölçüme kadar -20 °C'de saklanması,
- ve örneklerin 1 ay içinde analiz edilmesi önerilir

ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ laboratuvar uygulaması

- Laboratuvara ulaştıktan sonra hemen santrifüj edilerek plazma ayrılmalı
- ölçüm yapılana dek -20°C de saklanmalı





ACTH Ölçümü_Preanalitik Hata Nedenleri_Hacettepe

Hatalı istem	<%1
Uygun olmayan tüp	%1
Uygun olmayan zamanda örnek alımı	%50-60
Uygun olmayan transport	%5-10
Eksik volüm	%5-10
Yanlış etiketleme	%1-2
Hemoliz	%2-3
Pıhtı	%3-4
Uygun olmayan lab. uygulaması	%3-4

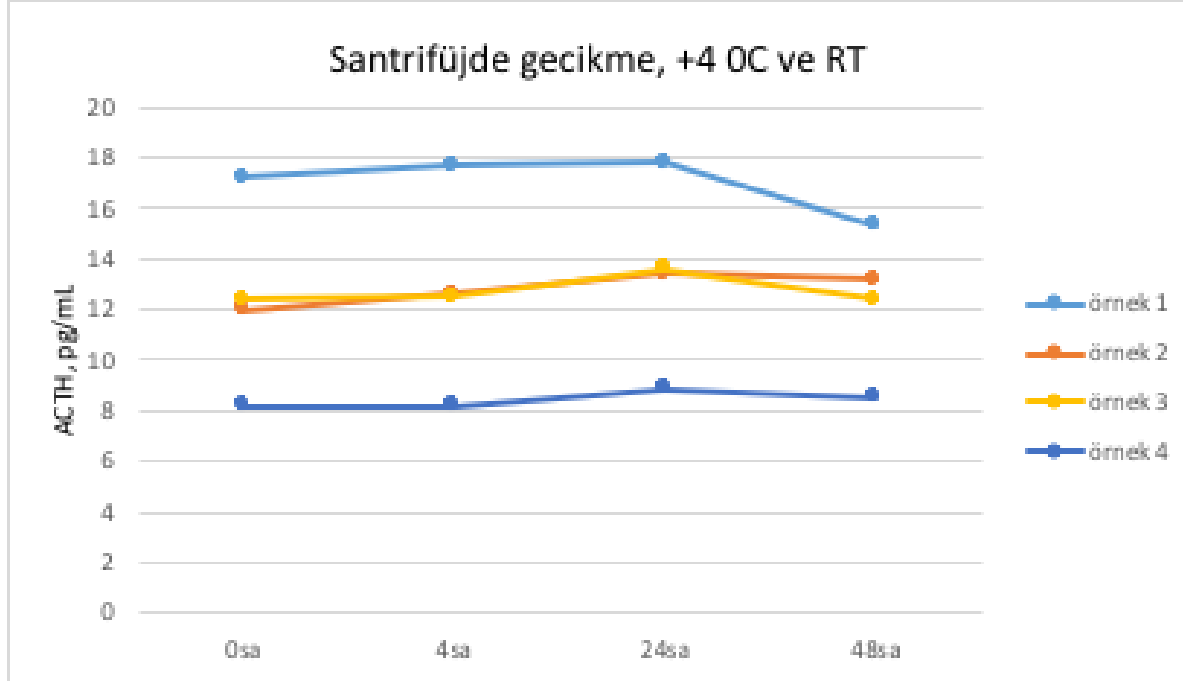
ÇALIŞMA

- AMAÇ: Laboratuvarımızda ACTH ölçümü için preanalitik hataların tanımlanması
- Bu amaçla:
 - Santrifugasyonda gecikme
 - Zamanında santrifüj, plazmanın dondurulmasında gecikme

Yöntem

- Santrifügasyonda gecikme için:
 - Gönüllülerden K2-EDTA içeren tüplere örnekler alındı
 - Bir tüp bazal değer olarak ölçüldü.
 - Diğer tüpler santrifüj edilmeden 4,24 ve 48 saat RT veya +4C de saklandı.
- Santrifügasyon sonrası dondurmanın gecikmesini saptamak için:
 - Santrifüj edilen örnekler kullanıldı.
 - Düşük, orta ve yüksek konsantrasyonları içeren plazma havuzu yapıldı.

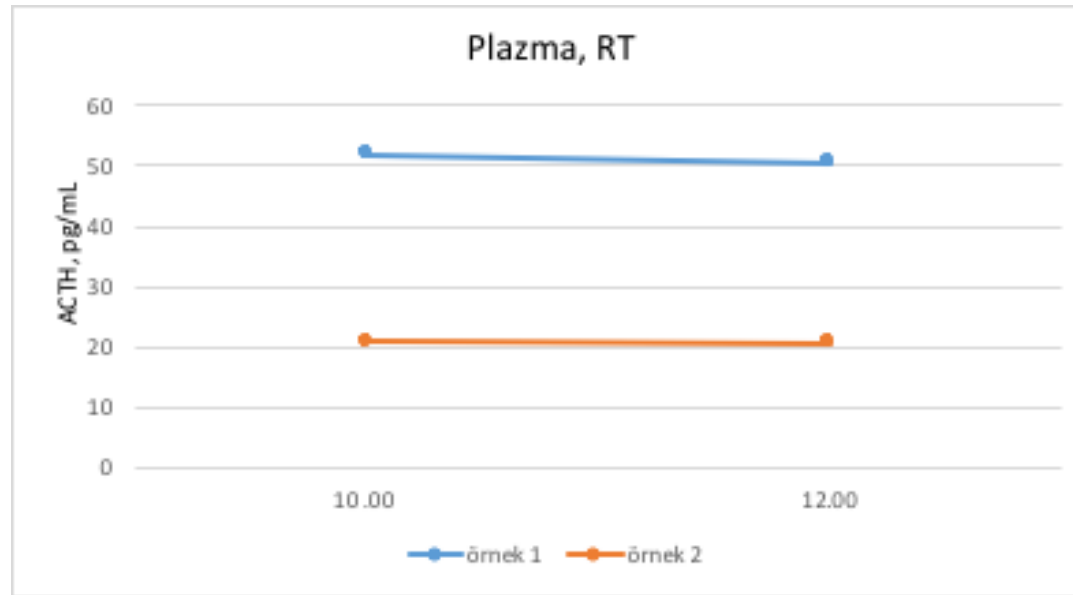
ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ santrifüjde gecikme



	RT	+4 C
4 sa	%1,85	%2,25
24 sa	%6,58	%5,52
48 sa	%5,87	%6,82

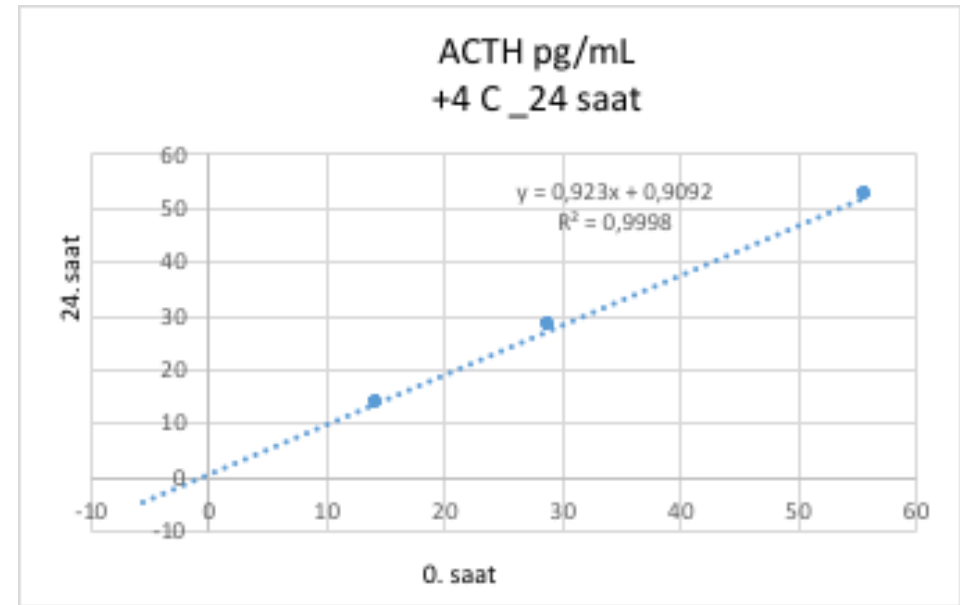
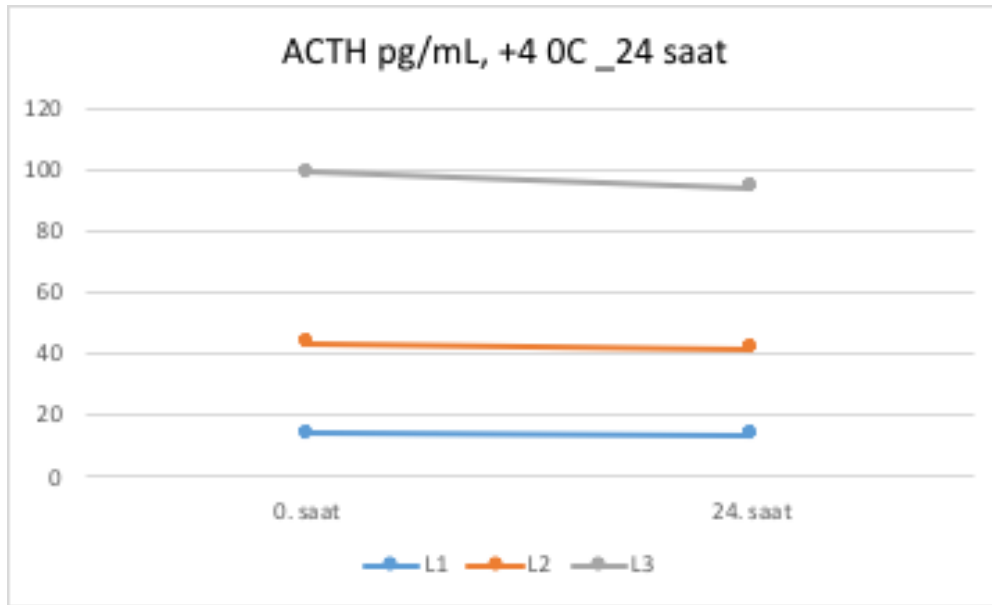
Santrifüjde gecikme %0,5 -%11,04 oranında düşüş izlendi.

ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ santrifüj sonrası RT'de saklama



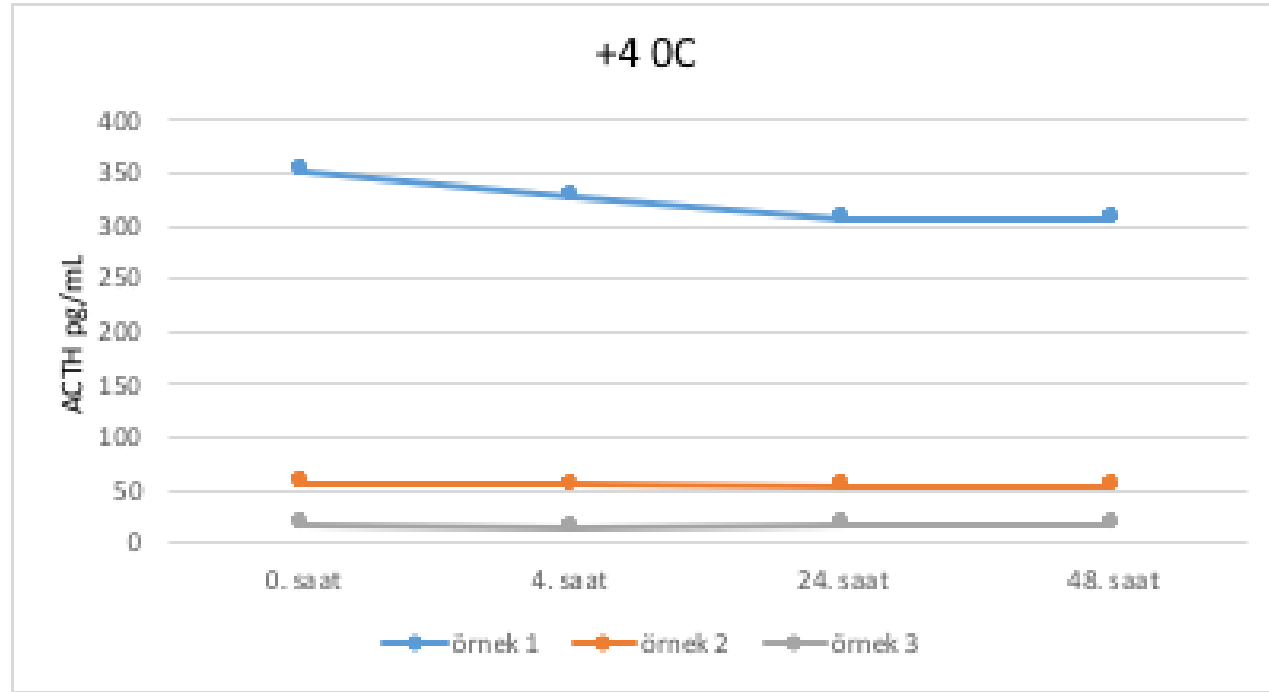
RT'de %2,6 ve %1,4 oranında ortalama %2 düşüş izlendi.

ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ santrifüj sonrası +4 °C'de saklama



+4 °C'de düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda sırasıyla %2,8, %3,4 ve %6,2 düşüş izlendi;

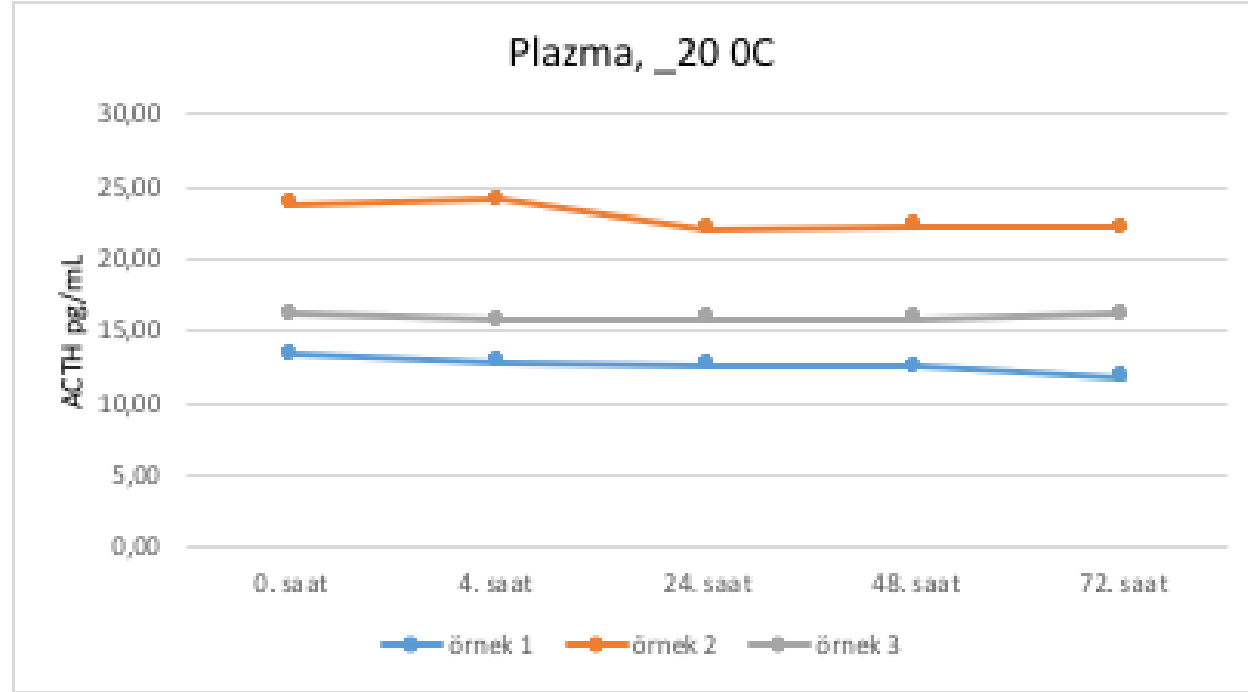
ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ santrifüj sonrası 48 saate kadar +4 °C'de saklama



	+4 C
4 sa	%6,9
24 sa	%6,68
48 h	%6,25

+4 0C'de 48 saate dek 0- %12,8 oranında düşüş izlendi

ACTH ölçümünde preanalitik hatalara neden olan faktörler_ santrifüj sonrası _20°C'de saklama



	_20 C
4 sa	%2,88
24 sa	%4,74
48 h	%4,85
72 sa	%6,81

_20 0C'de 0- %7,2 oranında düşüş izlendi

BULGULAR-1

- Kan örneklerinde ACTH stabilitesi araştırıldı.
- Santrifüjde gecikme ilk 4 saatte ACTH sonuçlarını etkilemedi. ACTH saklama koşullarına (RT / 4⁰C) bakılmaksızın 4 saat boyunca stabildir.
- Santrifüjde gecikme olmaksızın, 4⁰C'de 2, 4, 24 ve 48 saat saklanan örneklerde ACTH sonuçlarında santrifüj sonrası anlamlı değişiklik izlenmedi. ACTH plazma ayrıldıktan sonra 48 saate dek 4⁰C'de stabildir.
- ACTH, -20 ⁰C'de 72 saat stabildir.
- 4 ⁰C ile karşılaştırıldığında RT'de saklamanın ilk 2 saatte ACTH sonuçlarını etkilemediği izlendi.

TARTIŞMA

- Reicshe ve ark. Ları yaptıkları çalışmada, santrifüj edilmeden RT de 24 sa. saklamanın ortalama %10 ACTH da düşmeye neden olduğunu gösterdiler.
- Wu ve ark. Ları plazmanın RT de 2sa de %5.8 ve 24 sa de %25 düşüş olduğunu saptadılar.
- Christensen ve ark. Ları 4 sa buzda ve RT de beklemenin % 1,2 ve %1,8 düşüğe neden olduğunu gösterdiler.

Retrospektif alıřma

- Aralık 2017-Nisan 2018 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri'nde yapılan tüm ACTH istemleri geriye dönük olarak incelendi.
- Test istem, örnek alma, laboratuvara kabul ve sonuç/onay saatleri belirlendi.

BULGULAR-2

- ACTH istemlerinin %85'i sabah 10:30'a kadar yapılmaktadır.
- Totalin %62'sinde istemden sonra ilk 30 dakikada örnek alınmaktadır.
- Laboratuvar kabulü örneklerin %62'sinde ilk 60 dakikada yapılmaktadır.
- Tüm ACTH istemi olan örneklerin %20'si önce Acil Lab. a ve daha sonra Merkez Lab. a transport edilmektedir.
- Bu örneklerin plazmaları ayrıldıktan sonra -20°C 'de ortalama bekleme süresi 13,5 saattir.

SONUÇ

- Örnek kalitesi üzerinde etkisi olan faktörler hatırlanmalıdır:
 - istemin doğruluğu
 - hastanın doğru tanımlanması
 - uygun zamanda örnek alma
 - hacim ve örneklemenin ve tüp seçiminin doğru yapılması
 - laboratuvara transportun hızlı ve doğru yapılması
 - laboratuvarda hızlı işlem

SONUÇ

- Preanalitik evrede laboratuvar işleyişine uygun analit stabilitesinin sağlanması doğru ve güvenilir sonuçların elde edilmesinde önemlidir.
- Bu çalışmanın sonuçları gösteriyor ki hastanemizde ACTH ölçümü için örneklerin doğrudan hormon laboratuvarına transport edilmesi uygundur.