Utjecaj uvođenja deriviranog fibrinogena na financijsko poslovanje laboratorija

Prkić, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:419109

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Martina Prkić

Utjecaj uvođenja deriviranog fibrinogena na financijsko poslovanje laboratorija

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Specijalna područja kliničke biokemije Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Dunje Rogić.

Zahvaljujem se izv. prof. dr. sc. Dunji Rogić na povjerenju, pomoći i vodstvu pri izvođenju ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem se također Ani Mlinarić, mag. med. biochem. i Ani Lončar Vrančić, mag. med. biochem. na pomoći u razumijevanju praktičnog dijela ovog diplomskog rada i spremnosti odgovoriti na sva moja dodatna pitanja koja su se pojavila tijekom pisanja.

Na kraju bih htjela posebno zahvaliti svojoj obitelji i prijateljima koji su mi pružili potporu tijekom svih godina studiranja.

Sadržaj

1 Uvod 1

1.1 Fibrinogen 1

1.2 Klinički značaj 1

1.3 Metode određivanja fibrinogena 3

1.3.1 Claussova metoda 3

1.3.2 Derivirana metoda iz protrombinskog vremena 3

1.3.3 Količina proteina iz ugruška 4

1.3.4 Imunokemijske metode 4

1.4 Derivirani fibrinogen 4

2 Obrazloženje teme 7

3 Materijali i metode 8

3.1 Određivanje fibrinogena 9

3.1.1 Materijali 9

3.1.2 Metode 9

3.2 Određivanje deriviranog fibrinogena iz krivulje za PV 10

3.2.1 Materijali 10

3.2.2 Metode 10

3.3 Analiza troškova 11

4 Rezultati i rasprava 13

5 Zaključci 19

6 Literatura 20

7 Sažetak 21

8 Summary 22

9 Temeljna dokumentacijska kartica/ Basic documentation card

1 Uvod

1.1 Fibrinogen

Fibrinogen je glavni plazmatski glikoprotein molarne mase od 341 kDa koji se sintetizira u hepatocitima. Sastoji se od 3 vrste lanaca, od kojih su dva ponavljajuća (AαBβμ). Svih pet lanaca je povezano disulfidnim mostovima. Mehanizam aktivacije fibrinogena predstavlja zadnji korak koagulacijske kaskade. Trombin, koji je nastao iz protrombina, cijepa fibrinogen i otpušta fibrinopeptide A i B. Nakon cijepanja slijedi polimerizacija fibrinskih monomera i stvaranje netopljivog ugruška. Fibrin i fibrinogen proteolitičkim enzimima kao što je elastaza mogu se razgraditi na manje fragmente (Mackie i sur., 2003).

Proces fibrinolize je vrlo važan za kontrolu zgrušavanja. Dolazi do prevođenja plazminogena u aktivni plazmin koji se ugrađuje u fibrinogenske i fibrinske fragmente. Najmanji degradacijski produkti zovu se D-dimeri te je njihova prisutnost u plazmi biljeg fibrinolize, a u kliničkom smislu se koriste za isključenje duboke venske tromboze i plućne embolije (Štraus i sur., 2009).

1.2 Klinički značaj

Fibrinogen se uglavnom određuje u istraživanju hemoragija, praćenju trombolitičke terapije i u probiru rizika za bolesti arterija (Mackie i sur., 2002). Referentni interval za fibrinogen kod odraslih pacijenata iznosi 1,8-3,5 g/L (Stavljenić Rukavina i Čvorišćec, 2004).

Fibrinogen je pozitivni reaktant akutne faze te je povećane koncentracije kod akutnih i kroničnih upalnih procesa. Viši je i kod starijih osoba te kod žena, pogotovo tijekom trudnoće, za vrijeme mjesečnice, prilikom korištenja oralnih kontraceptiva i u postmenopauzi. Povišene koncentracije mogu se naći nakon izloženosti rentgenskom zračenju, kod fokalnih infekcija poput tonzilitisa, sinusitisa ili kolecistitisa. U nefrotskom sindromu dolazi do kompenzatornog povećanja koncentracije u jetri zbog gubitka albumina. Dolazi do povećanja vrijednosti i kao posljedice korištenja duhanskih proizvoda, akutnog povećanja nakon tjelovježbe i kod prisustva diseminiranih metastaza. Povišene vrijednosti fibrinogena predstavljaju rizični faktor za ishemijske bolesti srca jer je zbog povećane viskoznosti plazme veći rizik od tromboembolije. Međutim, zbog vrlo velikog broja stanja koja dovode do povišenih vrijednosti ovog parametra, interpretacija takvih vrijednosti kod pacijenata je vrlo teška jer se u obzir trebaju uzeti prije svega klinički, ali i genetski i fiziološki faktori te sva druga stanja koja mogu utjecati na njegovu razinu.

Snižene koncentracije ovog proteina puno su specifičnije i klinički vrlo bitne. Do deficita dolazi zbog funkcionalne jetrene insuficijencije što uzrokuje smanjenu sintezu, kao što je to u teškim oštećenjima jetre, hepatitisu, cirozi ili akutnoj atrofiji jetre. Kod ovakvih stanja dolazi do smanjene funkcije fibrinogenskih molekula zbog prisutnosti povišenih razina produkata razgradnje fibrina kod ovakvih stanja. U diseminiranoj intravaskularnoj koagulaciji također je prisutna ogromna potrošnja fibrinogena kao i prisustvo velike količine produkata razgradnje. Postoje naslijeđeni i stečeni poremećaji sinteze, otpuštanja i samog izgleda molekule fibrinogena. Masivne transfuzije krvi i korištenje koloida također mogu smanjiti koncentraciju fibrinogena zbog razrjeđenja krvi (Mackie i sur., 2003; Lawrie i sur., 1998; Štraus i sur., 2009).

Tablica 1. Kako fiziološki, patološki faktori i način života utječu na koncentraciju fibrinogena u plazmi.

Povišene vrijednosti	Starenje i ženski spol Godišnje doba Trudnoća i oralna kontracepcija Žene u postmenopauzi Reakcija akutne faze Pušenje Akutno nakon tjelovježbe Diseminirani tumori
Snižene vrijednosti	Afibrinogenemija, hipofibrinogenemija Dekompenzirana bolest jetre Virusni hepatitis Diseminirana intravaskularna koagulacija Razrjeđenje krvi

Tablica 2. Klinička vrijednost određivanja fibrinogena

Istraživanje stanja koja uključuju krvarenja (afibrinogenemija, hipofibrinogenemija, naslijeđena ili stečena disfibrinogenemija)
Istraživanje neočekivanih produljenih ili abnormalnih koagulacijskih rezultata
Detekcija diseminirane intravaskularne koagulacije
Uspostavljanje i praćenje dugoročne trombolitičke terapije
Procjena rizika za bolesti arterija
Komercijalna upotreba (dijagnostička industrija, farmaceutska industrija, transfuzije krvi) za kvalitetno praćenje i određivanje potentnosti (npr. koncentrata faktora VII i fibrinogena)

1.3 Metode određivanja fibrinogena

1.3.1 Claussova metoda

U uzorak se dodaju visoke koncentracije trombina i mjeri se vrijeme zgrušavanja. Rezultat se uspoređuje s kalibracijskom krivuljom koja se priprema analizom niza uzoraka s poznatom koncentracijom fibrinogena i izražava u gramima po litri. Kalibracijska krivulja mora biti linearna, te uključivati najmanje tri razrjeđenja plazme. Zbog formacije fibrinskih niti dolazi do promjene optičke gustoće, povećanja raspršenja svjetla i smanjenja transmisije.

Potrebno je obratiti pažnju na ograničenja ove metode. Ne bi se trebala koristiti unutar četiri sata od primitka terapije heparinom ili kod uzoraka onečišćenih heparinom. U ovoj metodi mogu također biti problematični zamućeni, lipemični i ikterični uzorci te uzorci koji sadrže slobodan hemoglobin jer mogu interferirati s optičkim određivanjem koncentracije fibrinogena (Mackie i sur., 2003).

1.3.2 Derivirana metoda iz protrombinskog vremena

Ovo je metoda indirektnog mjerenja u uzorku. Uređaj se kalibrira mjerenjem protrombinskog vremena u plazmi poznatih koncentracija fibrinogena. Iz podataka nastaje graf odnosa promjene apsorbancije i koncentracije fibrinogena u uzorku. Nakon mjerenja protrombinskog vremena uzoraka podatak se očitava s kalibracijske krivulje.

Iako je metoda brza i ekonomski isplativa potreban je oprez u interpretaciji rezultata, pogotovo kod pacijenata koji su na oralnoj antikoagulacijskoj terapiji (Llamas i sur., 2004; De Cristofaro i Randolfi, 1998). Također je dokazano kako ova metoda može dati lažno povišene

rezultate kod pacijenata koji boluju od disfibrinogenemije, pa je moguće propustiti ovu dijagnozu kod takvih osoba (Gama, 2016). Ipak, u prisustvu degradacijskih produkata fibrinogena derivirana metoda je točnija od Claussove metode (Mackie i sur., 2003).

1.3.3 Količina proteina iz ugruška

Ova metoda je vrlo točna i predstavlja referentnu metodu određivanja fibrinogena. U plazmu se dodaje trombin u odsustvu kalcijevih iona. Ugrušak se ispire u alkalnoj urei nakon čega dolazi do fotometrijskog određivanja proteina. Budući da većinu proteina iz ugruška čini fibrin, koncentracija proteina približno odgovara koncentraciji fibrinogena u uzorku. Metoda mjerenja količine proteina iz ugruška je neprikladna za rutinsku primjenu u laboratorijima, iako se ponekad radi kao metoda izbora ukoliko je točan i precizan rezultat iznimno bitan, npr. prilikom istraživanja kongenitalnih defekata u stvaranju fibrinogena (Mackie i sur., 2003).

1.3.4 Imunokemijske metode

Imunokemijske metode određivanja uključuju ELISA metodu (*enzyme-linked immunosorbent assay*), radijalnu imunodifuziju i elektroforetske tehnike. Ove metode su najdugotrajnije, ali pružaju najveću moguću točnost i preciznost. Loša strana imunokemijskih metoda je što mjere koncentraciju proteina, ne i aktivnost pa su mogući lažni rezultati ako su prisutni degradacijski produkti fibrinogena. Međutim, korištenje monoklonalnih antitijela dozvoljava i detekciju samo nerazgrađenih niti fibrinogena, ili specifičnih tipova razgradnih produkata fibrinogena.

Ove metode se uglavnom koriste kod istraživanja fibrinogena kao faktora rizika za kardiovaskularne bolesti gdje se očekuju normalni ili povišeni rezultati. Korisne su i kod ispitivanja i razlikovanja kongenitalnih defekata fibrinogena (Mackie i sur., 2003).

1.4 Derivirani fibrinogen

Točnost metode očitavanja vrijednosti fibrinogena iz krivulje protrombinskog vremena je više puta ispitivana. Korelacija s modificiranom Claussovom metodom ovisi o skupini pacijenata kojoj se određuje parametar i metodi izvođenja pretrage protrombinskog vremena. U usporedbi ove dvije metode uglavnom su prisutne više vrijednosti kod derivirane metode, osim kod pacijenata koji boluju od hipofibrinogenemije i zdravih osoba.

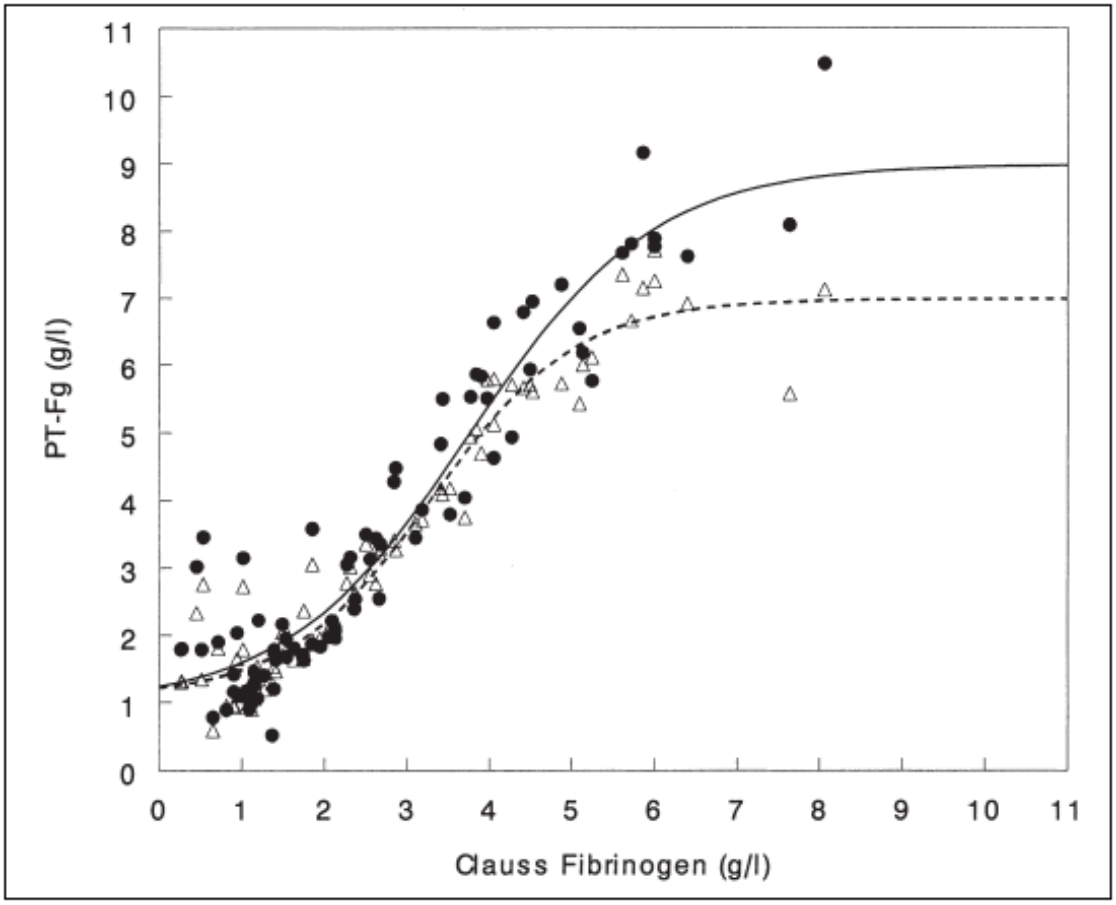
Budući da su obje metode optičke, primijećene su i nepodudarnosti rezultata kod uzoraka koji su više zamućeni. S obzirom na to da derivirana metoda nije osjetljiva na prisutnost

degradacijskih produkata fibrina, prisutna je velika razlika u usporedbi dobivenih rezultata sa Clausovom modificiranom metodom. Ova osobina derivirane metode je poželjna u određivanju fibrinogena kod pacijenata koji boluju od diseminirane intravaskularne koagulacije jer vjernije dočarava stanje organizma budući da joj produkti razgradnje ne smetaju.

Primijećene su i velike razlike kod pacijenata koji su na oralnoj antikoagulacijskoj terapiji. Do toga dolazi jer je derivirana metoda osjetljiva i na fibrinogen koji se djelomično zgrušava pa bi ovakvu vrstu mjerenja trebalo izbjegavati kod ove skupine pacijenata.

Korelacija između ove dvije metode može se pokazati sigmoidnom krivuljom kod svih metoda određivanja deriviranog fibrinogena. (slika 1) To se događa jer derivirana metoda ima gornji cut-off limit koji ovisi o analizatoru, dok je kod nižih koncentracija problem niske osjetljivosti jer su razlike u raspršenju svjetla male.

Kod korištenja derivirane metode potrebno je ove podatke uzeti u obzir i postaviti uvjete određivanja na analizatoru tako da se dobiju najvjerniji mogući rezultati (Mackie i sur., 2002).



Slika 1. Usporedba vrijednosti fibrinogena dobivenih deriviranom metodom iz protrombinskog vremena i Claussovom modificiranom metodom. Dvije metode su korištene za određivanje deriviranog fibrinogena preko krivulje protrombinskog vremena: Innovin (•) te PT-FibHS+ metoda (△) (Mackie i sur., 2002).

2 Obrazloženje teme

Izračunavanje koncentracije fibrinogena iz krivulje kojom je analizirano protrombinsko vrijeme kod hospitaliziranih pacijenata jedna je od mjera uštede koju koriste brojni laboratoriji. Pitanje je koliko se financijskih sredstava može uštedjeti korištenjem ove metode. U ovom diplomskom radu obrađeni su podatci izdanih pretraga fibrinogena i deriviranog fibrinogena u redovnom i hitnom laboratoriju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb unutar prvih devet mjeseci 2018. godine. U odnosu na cijenu jedne pretrage izračunata je ukupna ušteda u tom periodu. Iz tih podataka izračunata je i godišnja ušteda medicinsko-biokemijskog laboratorija. Dobiveni podatci su ekstrapolirani na razdoblje od četiri godine koliko ova mjera uštede traje.

3 Materijali i metode

Uzorci: Fibrinogen i protrombinsko vrijeme se određuju iz venske krvi izvađene u epruvetu koja sadrži natrijev citrat kao antikoagulans u koncentraciji 0,11 mol/L. Omjer volumena antikoagulansa i krvi mora biti 1 : 9. Krv mora biti izvađena bez staze. Uzorak se prvo mora pregledati, sadrži li ugruške, hemolizu, lipemiju ili ikteriju. Nakon toga se centrifugira brzinom 1500 g 15 minuta na sobnoj temperaturi. U supernatantu plazme se određuju koagulacijski parametri (Mackie i sur., 2003).

Ukoliko je hematokrit veći od 0,55, primjerice u policitemiji, KOPB-u i kod novorođenčadi, potrebno je prilagoditi volumen antikoagulansa u epruveti jer je prisutna manja količina plazme što uzrokuje lažno produljeno vrijeme zgrušavanja zbog neadekvatne koncentracije antikoagulansa. U tome se slučaju volumen citrata koji ostaje u epruveti izračunava prema formuli:

$$C = 1{,}85 * 10^{-3} * (100 - Hct) * V_{krvi}$$

gdje je C volumen citata koji ostaje u epruveti, Hct je pacijentov hematokrit i V predstavlja volumen krvi koja se miješa s antikoagulansom. (https://www.mayocliniclabs.com/it-mmfiles/Coagulation_Studies.pdf)

U redovnom i hitnom laboratoriju KBC Zagreb koristi se Siemens BCS XP koagulacijski analizator, Siemens d.d., Healthcare Diagnostics, USA.

Tablica 3. Predanalitičke varijable.

Antikoagulans	Natrijev citrat (0,105 – 0,109 mol/L)
Omjer antikoagulansa i krvi	1 : 9
Hematokrit	Podešavanje koncentracije citrata za policitemiju
Venepunktura	Brzo uz minimalnu stazu
Ispitivanje krvi i plazme	Ugrušci, hemoliza, lipemija, ikterija
Uklanjanje trombocita	Centrifugiranje > 1700 g, 10 minuta
	$< 10 \times 10^9$ /L
Pohrana	4°C tijekom 48 sati (ako nije prisutna diseminirana intravaskularna koagulacija)
	-70°C preko 18 mjeseci
Zamrzavanje i odmrzavanje	Na 37°C ≥ 5 minuta uz dobro miješanje
Točno razrjeđivanje	Razrijediti koncentrirane uzorke i plazme s visokim koncentracijama tako da su vrijednosti unutar standardne krivulje

3.1 Određivanje fibrinogena

3.1.1 Materijali

Multifibren® U, reagens za kvantitativno određivanje fibrinogena u plazmi

Fibrinogen Calibrator Kit

Kaolin Suspension for Fibrintimer (BFT® II)

Control Plasma N

Control Plasma P

Ci-Trol® Level 1

3.1.2 Metode

Fibrinogen se eksperimentalno određuje modificiranom Claussovom metodom.

Princip: Citratna plazma se zgrušava zbog prisutnosti velike količine trombina prisutnog u reagensu. Vrijeme zgrušavanja na 37°C ovisi isključivo o koncentraciji fibrinogena u uzorku te se očitava s baždarnog pravca.

Postupak: 100µL uzorka se inkubira 60 sekundi na 37 °C. Dodaje se 200 µL Multifibren® U, reagensa i prati se vrijeme potrebno za stvaranje ugruška. Očitavanjem rezultata s referentne krivulje vremena potrebnog za zgrušavanje i koncentracije fibrinogena u uzorku, dobit će se konačna koncentracija.

U laboratorijskom sustavu postoje četiri različite vrste eksperimentalno dobivenih vrijednosti fibrinogena. Fib.low je kalibrirana na niskim vrijednostima fibrinogena i mjeri u rasponu 0,4 g/L - 3,4 g/L. Fib mjeri uglavnom u rasponu normalnih i blago povišenih vrijednosti fibrinogena (0,6 g/L – 10,2 g/L). Fib.high je kalibrirana na povišenim vrijednostima kontrolnih uzoraka. Sve tri metode koriste valnu duljinu od 410 nm. Četvrta vrsta mjerenja je Fib570, odnosno mjerenje na valnoj duljini od 570 nm kako bi izbjegli interferencije koje su mogle biti prisutne na nižim valnim duljinama (ikterija, lipemija, hemoliza u hitnim stanjima) (Siemens Healthcare Diagnostics, Multifibren® U, uputa za reagens, 2015.) .

3.2 Određivanje deriviranog fibrinogena iz krivulje za PV

3.2.1 Materijali

Dade® Innovin®, reagens za određivanje PV

Control Plasma N ili Dade® Ci-Trol® Level 1

Control Plasma P, Dade® Ci-Trol® Level 2 ili Dade® Ci-Trol® Level 3

PT-Multi Calibrator

Standardna humana plazma ili svježa normalna plazma za određivanje srednjeg normalnog PV

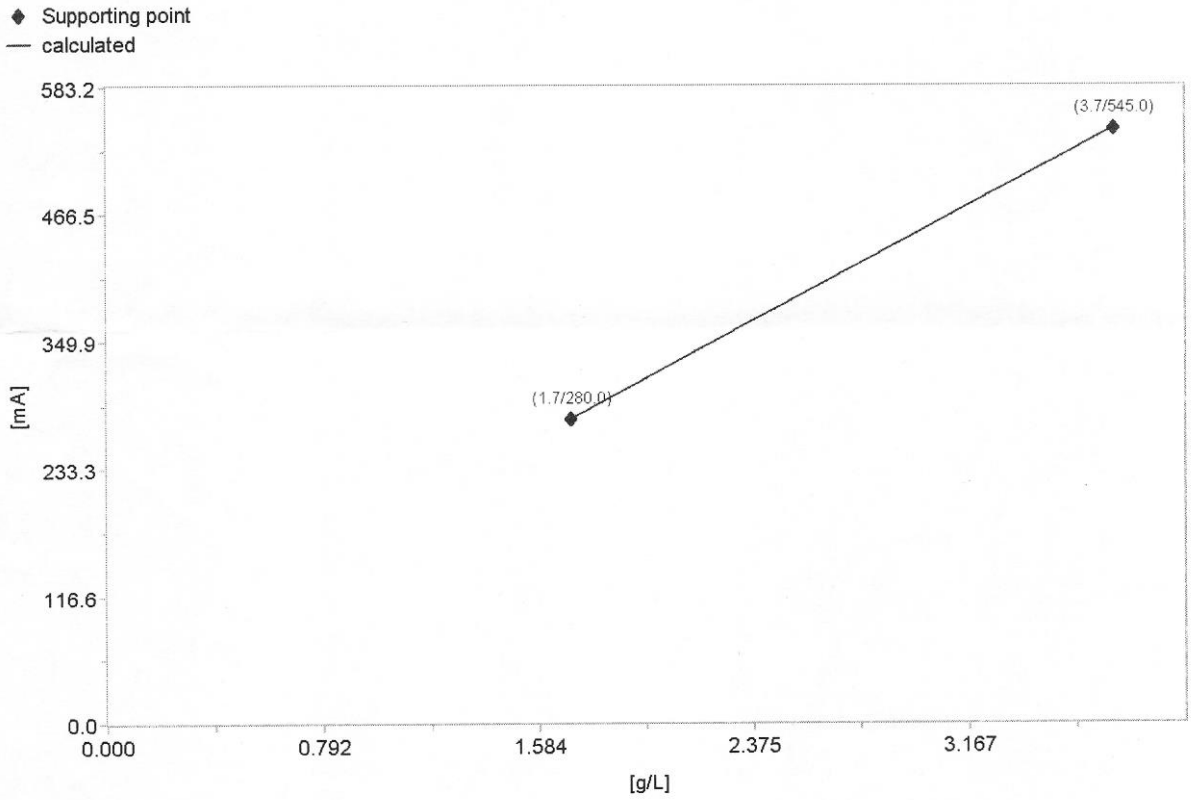
3.2.2 Metode

Princip: Prilikom mjerenja protrombinskog vremena, što je veća koncentracija fibrinogena u uzorku veća je amplituda između početne i krajnje točke mjerenja. Ovisno o razlici u apsorbanciji ove dvije točke iz baždarnog pravca očitava se točna koncentracija fibrinogena. (slika 2)

Postupak: Inkubacijom plazme s optimalnom količinom tkivnog tromboplastina i kalcija dolazi do aktivacije koagulacijske kaskade. Mjerenjem vremena potrebnog za zgrušavanje dobije se vrijednost PV u sekundama ili u odnosu na normalnu plazmu kojoj pridružujemo vrijednost 1. Derivirani fibrinogen se određuje iz kalibracijske krivulje odnosa promjene optičkog signala tijekom mjerenja PV ovisno o koncentraciji fibrinogena u g/L (Siemens Healthcare Diagnostics, Dade® Innovin®, uputa za reagens, 2017.) .

3.3 Analiza troškova

Prikupljeni su statistički podaci po mjesecima iz redovnog i hitnog laboratorija za prvih devet mjeseci 2018. godine. Podaci su razdijeljeni na dvije skupine: analize obavljene modificiranom Claussovom metodom i analize fibrinogena deriviranog iz protrombinskog vremena. Nakon toga su izračunati ukupni troškovi laboratorija za sve izdane pretrage fibrinogena i potencijalni troškovi rezultata analiza obavljenih mjerenjem iz krivulje za protrombinsko vrijeme. Budući da se broj pretraga mijenja iz mjeseca u mjesec, rezultati su također prikazani i u obliku postotka ukupnog broja izdanih fibrinogena bez obzira na metodu.



Slika 2. Kalibracijska krivulja odnosa promjene apsorbancije prilikom mjerenja protrombinskog vremena i koncentracije fibrinogena u g/L

4 Rezultati i rasprava

Uzevši u obzir da je trošak laboratorija za jednu pretragu fibrinogena 2,78 kn, dobivene su vrijednosti iz tablice 4. Ukupna ušteda laboratorija zamjenom eksperimentalne metode deriviranim fibrinogenom kada je to moguće kod hospitaliziranih pacijenata tijekom prvih devet mjeseci 2018. godine iznosi 107.897,36 kn . U siječnju je izdan najveći broj deriviranih fibrinogena i došlo je do uštede 13.202,22 kn (74,19 %), dok je u kolovozu izdano najmanje pretraga pa ušteda iznosi 10.341,60 kn (79,73 %). Budući da se broj pretraga mijenja iz mjeseca u mjesec, rezultati su izraženi i u postotcima ukupnog broja izdanih pretraga u određenom mjesecu. Ako se gledaju postotci, najveća je ušteda bila u srpnju, gdje je 80,03 % (12.076,32 kn) fibrinogena izdano kao derivirani fibrinogen, dok je najmanji postotak od 72,67 % (11.776,08) dostignut u veljači.

Dobiveni podaci mogu se ekstrapolirati i na duža razdoblja. Prema dobivenim rezultatima ušteda uvođenjem derivirane metode iznosi oko 143.863,15 kn godišnje. S obzirom na to da je pretraga deriviranog fibrinogena uvedena kao mjera štednje 2014. godine, tijekom te četiri godine ušteđeno je oko 575.000,00 kn.

Tablica 4. Rezultati uštede Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb uvođenjem pretrage deriviranog fibrinogena kod hospitaliziranih pacijenata tijekom prvih devet mjeseci 2018. godine. Ukupna ušteda iznosi 107.897,36 kn.

	Siječanj 2018.		Veljača 2018.		Ožujak 2018.	
	Redovni laboratorij	Hitni laboratorij	Redovni laboratorij	Hitni laboratorij	Redovni laboratorij	Hitni laboratorij
mod. Cl. fib.	792	860	696	897	767	826
der. fib.	2705	2044	2282	1954	2496	2001
ukupni broj pretraga		6401		5829		6090
cijena fib.	2201,76 kn	2390,80 kn	1934,88 kn	2493,66 kn	2132,26 kn	2296,28 kn
ušteda der. fib.	7519,90 kn	5682,32 kn	6343,96 kn	5432,12 kn	6938,88 kn	5562,78 kn
Ukupna ušteda po mjesecima		13202,22 kn		11776,08 kn		12501,66 kn
		74,19 %		72,67 %		73,84 %

	Travanj 2018.		Svibanj 2018.		Lipanj 2018.	
	Redovni laboratorij	Hitni laboratorij	Redovni laboratorij	Hitni laboratorij	Redovni laboratorij	Hitni laboratorij
mod. Cl. fib.	756	756	666	985	646	501
der. fib.	2417	2017	2410	2157	2039	1923
ukupni broj pretraga		5946		6218		5109
cijena fib.	2101,68 kn	2101,68 kn	1851,48 kn	2738,30 kn	1795,88 kn	1392,78 kn
ušteda der. fib.	6719,26 kn	5607,26 kn	6699,80 kn	5996,46 kn	5668,42 kn	5345,94 kn
Ukupna ušteda po mjesecima		12326,52 kn		12696,26 kn		11014,36 kn
		74,57 %		73,45 %		77,55 %

	Srpanj 2018.		Kolovoz 2018.		Rujan 2018.	
	Redovni laboratorij	Hitni laboratorij	Redovni laboratorij	Hitni laboratorij	Redovni laboratorij	Hitni laboratorij
mod. Cl. fib.	607	477	552	394	683	511
der. fib.	2392	1952	2097	1623	2301	2002
ukupni broj pretraga		5428		4666		5497
cijena fib.	1687,46 kn	1326,06 kn	1534,56 kn	1095,32 kn	1898,74 kn	1420,58 kn
ušteda der. fib.	6649,76 kn	5426,56 kn	5829,66 kn	4511,94 kn	6396,78 kn	5565,56 kn
Ukupna ušteda po mjesecima		12076,32 kn		10341,60 kn		11962,34 kn
		80,03 %		79,73 %		78,28 %

Derivirani fibrinogen se dogovorno određuje samo kod hospitaliziranih pacijenata jer derivirana metoda nije usporediva između različitih laboratorija. Obrađeni su podaci uštede od ukupnog broja pretraga koje su izvedene u danom periodu bez izuzimanja vanjskih pacijenata kojima se fibrinogen u svim slučajevima određuje modificiranom Claussovom metodom. Kada bi se u obzir uzeli samo bolnički pacijenti, na čijim je uzorcima jedino i moguće koristiti deriviranu metodu, izračunati postotak izdanih deriviranih fibrinogena u ukupnom broju izdanih pretraga bio bi još veći.

Kako bi se u laboratorijskom sustavu radi točnosti i pouzdanosti odredilo iz kojih se uzoraka može izdavati derivirani fibrinogen postavljeni su i određeni kriteriji:

- Vrijednosti deriviranog fibrinogena se ne smije izdati ako je manja od 2 g/L. U tom slučaju potrebno je izmjeriti stvarnu vrijednost modificiranom Claussovom metodom
- Vrijednost deriviranog fibrinogena se ne smije izdati ako se ne može izmjeriti protrombinsko vrijeme, najčešće u slučajevima
    - Predoziranja oralnom antikoagulacijskom terapijom
    - Nepravilnog uzimanja oralne antikoagulacijske terapije
    - Ikterije i lipemije
- Vrijednosti deriviranog fibrinogena nisu pouzdane ako je pacijent na oralnoj antikoagulacijskoj terapiji
- Vrijednost deriviranog fibrinogena se ne smije izdati ako je protrombinsko vrijeme manje ili jednako 0,50, a derivirani fibrinogen veći od 3,5 g/L (empirijsko pravilo ukinuto 15. 3. 2018.)
- Vrijednost deriviranog fibrinogena se ne izdaje ako je veća od 7 g/L (empirijsko pravilo ukinuto 6. 6. 2018.)

Tijekom ovog razdoblja dva puta je došlo do promjene kriterija za izdavanje rezultata pretraga fibrinogena deriviranom metodom što je imalo za posljedicu smanjenje broja pretraga fibrinogena koje se izvode modificiranom Claussovom metodom i povećanje uštede laboratorija. Ove promjene su se dogodile zbog revidiranja autovalidacijskih kriterija u ožujku te kasnije, u lipnju, i spajanja laboratorijskih informacijskih sustava redovnog i hitnog laboratorija pri čemu je moralo doći i do harmonizacije autovalidacijskih kriterija na razini oba laboratorija.

Prvo pravilo glasilo je da se fibrinogen određuje modificiranom Claussovom metodom ako je protrombinsko vrijeme manje od 0,50 te derivirani fibrinogen veći od 3,5 g/L. Budući da laboratorijski informacijski sustav ne omogućava postavljanje ovakvih autovalidacijskih uvjeta, ovo pravilo je ukinuto 15. ožujka 2018. godine. Pravilo je zahtijevalo da verifikator u slučaju kada je protrombinsko vrijeme manje od 0,50 mora paziti da ne verificira rezultat deriviranog fibrinogena, već da pričeka refleksni test. Ako bi se postavilo pravilo blokiranja svih rezultata protrombinskog vremena ispod 0,50, to bi značilo gotovo potpunu blokadu autovalidacije koagulacijskih pretraga, a budući da nije moguće uvesti pravila provjere nekonzistentnih rezultata bilo je potrebno ukinuti ovo pravilo iz upotrebe. Ukidanjem ovog pravila nije se značajno promijenio postotak uštede laboratorija iz mjeseca u mjesec jer nije postojao značajan broj nalaza koji su u prethodnom razdoblju bili obuhvaćeni ovim pravilom.

Pravilo ukinuto 6. lipnja glasilo je: „Ako je izmjerena vrijednost deriviranog fibrinogena iznad 7,0 g/L refleksno se radi fibrinogen modificiranom Claussovom metodom.“ Ovo je pravilo kod kreiranja novih autovalidacijskih pravila u ožujku ostalo zadržano. Međutim, zbog spajanja baza laboratorijskog informacijskog sustava redovnog i hitnog laboratorija bilo ga je potrebno ukinuti. Oba laboratorija morala su imati jednaka autovalidacijska pravila i morali su jednako postupati s dobivenim podacima. Budući da točne vrijednosti povišenih razina fibrinogena nisu posebno klinički značajne zbog vrlo visoke osjetljivosti analita kako na fiziološka i patofiziološka stanja, tako i na način života, primjenom derivirane metode dolazi do uštede vremena koja je iznimno potrebna u hitnom laboratoriju. Ukidanjem ovog pravila došlo je do značajne uštede zbog velikog smanjenja broja pretraga koje su analizirane modificiranom Claussovom metodom. Od prosječnih 73,7 % pretraga koje su izdane kao derivirani fibrinogen tijekom prvih pet mjeseci 2018. godine, kasnije se ovaj postotak povećava na oko 78,9% ukupnog broja pretraga.

Prednosti derivirane metode određivanja fibrinogena su ušteda vremena i novca te neosjetljivost na produkte razgradnje fibrinogena. Budući da je protrombinsko vrijeme potrebno za svaku koagulacijsku evaluaciju pacijenta i uvijek se određuje, za dobivanje koncentracije fibrinogena mjerene ovom metodom potrebni su nam samo podaci koji se očitavaju s već postojeće krivulje, odnosno ne dolazi do dodatne potrošnje reagensa. Također, vrijeme potrebno za izdavanje nalaza je kraće baš zbog toga što se vrijednost fibrinogena izvodi iz već dobivenih podataka što može biti izrazito značajno u hitnom medicinsko-biokemijskom laboratoriju. S obzirom na to da je određivanje deriviranog fibrinogena neovisno o količini produkata razgradnje fibrinogena u krvi, u diseminiranoj intravaskularnoj

koagulaciji derivirana metoda daje rezultate koji su puno bliži stvarnoj vrijednosti u organizmu u usporedbi s modificiranom Claussovom metodom na koju fibrinogen produkti uvelike utječu.

Nedostaci derivirane metode su neslaganje s rezultatima modificirane Claussove metode koja je već definirana kao rutinska koagulacijska metoda u odnosu na koju su određeni i referentni intervali. Rezultati su najčešće povišeni i to može dovesti do previđanja disfibrinogenemije kod pacijenata koji boluju od ovoga poremećaja zbog naizgled normalne vrijednosti koncentracije fibrinogena u uzorku. Razlika u vrijednostima nije predvidiva jer ovisi o kliničkom stanju pacijenta, kao i o reagensu koji se koristi. Derivirana metoda se ne bi smjela nikad koristiti kod pacijenata koji su na oralnoj antikoagulacijskoj terapiji i trombolitičkoj terapiji jer se kod tih stanja dobivaju značajno više vrijednosti fibrinogena prilikom određivanja ovom metodom u odnosu na rutinsku laboratorijsku pretragu.

Zbog velikog broja nedostataka koji se pojavljuju uglavnom u patološkim stanjima, koja su i češća kod hospitaliziranih bolesnika, bilo je potrebno jako pažljivo odrediti kriterije korištenja ove metode kako bi razina kvalitete rezultata koagulacijskih pretraga ostala očuvana unatoč značajnom smanjenju financijskog opterećenja laboratorija. Ipak, u određenim stanjima, kao što je diseminirana intravaskularna koagulacija, dobiveni rezultati mogu biti čak i točniji od rezultata izmjerenih modificiranom Claussovom tehnikom. Isto tako, treba uzeti u obzir i plato područja sigmoidne krivulje u odnosu na modificiranu Claussovu tehniku koja se primjećuju kod pretjerano niskih i visokih vrijednosti u plazmi. Budući da kod nekih uzoraka nije moguće izmjeriti protrombinsko vrijeme, što je uglavnom povezano s antikoagulacijskom terapijom i optičkim smetnjama, ni u ovim uzorcima nije moguće koristiti deriviranu metodu zbog nepravilnog oblika krivulje. Ipak, uzevši u obzir sva ograničenja koja ova metoda donosi, moguće je i uz stroge uvjete postići značajnu uštedu od oko tri četvrtine resursa u odnosu na izvođenje ove pretrage modificiranom Claussovom metodom što postaje vrlo relevantno u smanjenju troškova laboratorija i može činiti integralni dio uštede većih bolničkih centara.

Uvođenjem uštede na visokofrekventnoj pretrazi u bolničkoj rutini, čak i ako je ona niske cijene, može se postići vrlo značajna ušteda novca i vremena, posebno u velikim laboratorijima. Primjena deriviranog fibrinogena umjesto modificirane Claussove tehnike pri točno definiranim kriterijima omogućila je veliku uštedu novca uz brže izdavanje potpuno jasnih nalaza. Iako derivirana metoda u odnosu na modificiranu Claussovu metodu ima brojne

nedostatke, pažljivim kreiranjem autovalidacijskih kriterija ti se nedostaci mogu gotovo u potpunosti ukloniti, te se rezultati derivirane metode mogu smatrati primjerenima za korištenje u kliničkoj praksi jednako kao i rezultati rutinske metode.

5 Zaključci

Uvođenjem deriviranog fibrinogena kao pretrage došlo je do vrlo značajne financijske uštede laboratorija unatoč niskoj cijeni pretrage. Međutim, potrebno je na samom početku oprezno postaviti kriterije u kojima se derivirana metoda može uzeti u obzir kao relevantna te imati na umu kako ova metoda nije međulaboratorijski usporediva i ne bi se smjela koristiti kod vanjskih pacijenata. Ako se ispravno postave kriteriji, dolazi do velike uštede novca, ali isto tako i uštede vremena koje je potrebno za izdavanje koagulacijskog nalaza, što može biti od osobite važnosti u hitnim stanjima. U nekim stanjima, kao što je diseminirana intravaskularna koagulacija, derivirani fibrinogen se pokazao čak i boljim prediktorom stvarnog stanja od modificirane Claussove metode.

Smatram kako uvođenje ove pretrage, uzevši u obzir postojeća istraživanja, može biti jako dobra mjera štednje novca i vremena u medicinsko-biokemijskim laboratorijima što pokazuju i obrađeni podatci. Unatoč niskoj cijeni ova pretraga je visokofrekventna i u velikom broju slučajeva rezultati dobiveni deriviranom metodom su dovoljno dobar prediktor stanja organizma.

6 Literatura

De Cristofaro R, Landolfi R. Measurement of plasma fibrinogen concentration by the prothrombin-time-derived method: applicability and limitations. *Blood Coagul Fibrinolysis,* 1998, 3, 251-259

Gama S. Low fibrinogen levels: How to maximize accuracy when using an optically derived method. *J Appl Hematol,* 2016, 7, 148-149.

Lawrie AS, McDonald SJ, Purdy G, Mackie IJ, Machin SJ. Prothrombin Time Derived Fibrinogen Determination on Sysmex CA-6000^{TM}. *J Clin Pathol,* 1998, 51, 462-466.

Llamas P i suradnici. Diagnostic utility of comparing fibrinogen Clauss and prothrombin time derived method. *Thrombosis Research*, 2004, 114, 73-74.

Mackie i suradnici. Guidelines on Fibrinogen Essays. *British Journal of Haematology,* 2003, 121, 396-404.

Mackie IJ, Lawrie AS, Kitchen S, Gaffney PJ, Howarth D, Lowe GDO, Martin J, Purdy G, Rigsby P, Rumley A. A Performance Evaluation of Commercial Fibrinogen Reference Preparations and Assays for Clauss and PT-derived Fibrinogen. *Thromb Haemost*, 2002, 87, 997-1005.

Stavljenić Rukavina A, Čvorišćec D. Organizacija i upravljanje u medicinskom laboratoriju. Zagreb, Medicinska naklada, 2004, str. 38.

Štraus B, Barišić K. Proteini. U: Štrausova medicinska biokemija. Čvorišćec D, Čepelak I, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 176-202.

Coagulation studies, 2018., https://www.mayomedicallaboratories.com, pristupljeno 26. 11. 2018.

7 Sažetak

Izračunavanje koncentracije fibrinogena iz krivulje kojom je analizirano protrombinsko vrijeme kod hospitaliziranih pacijenata jedna je od mjera uštede koju koriste brojni laboratoriji. U ovom diplomskom radu obrađeni su podatci izdanih pretraga fibrinogena i deriviranog fibrinogena u redovnom i hitnom laboratoriju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb unutar prvih devet mjeseci 2018. godine. Ukupna ušteda laboratorija zamjenom eksperimentalne metode deriviranim fibrinogenom u tom razdoblju iznosi 107.897,36 kn. Budući da je pretraga deriviranog fibrinogena uvedena kao mjera štednje 2014. godine, tijekom te četiri godine ušteđeno je oko 575.000,00 kn.

Ako se ispravno postave kriteriji, dolazi do velike uštede financijskih sredstava, ali isto tako i uštede vremena koje je potrebno za izdavanje koagulacijskog nalaza što može biti od osobite važnosti u hitnim stanjima. Međutim, potrebno je imati na umu kako ova metoda nije međulaboratorijski usporediva te se ne bi smjela koristiti kod vanjskih pacijenata. Također, zbog velikog broja nedostataka koji se pojavljuju uglavnom u patološkim stanjima, koja su i češća kod hospitaliziranih bolesnika, bilo je potrebno jako pažljivo odrediti kriterije korištenja ove metode kako bi razina kvalitete rezultata koagulacijskih pretraga ostala očuvana unatoč značajnom smanjenju financijskog opterećenja laboratorija. Ipak, u određenim stanjima, kao što je diseminirana intravaskularna koagulacija, dobiveni rezultati mogu biti čak i točniji od rezultata izmjerenih modificiranom Claussovom tehnikom. Isto tako, treba uzeti u obzir i plato područja sigmoidne krivulje koja se primjećuju kod pretjerano niskih i visokih vrijednosti u plazmi. Ipak, uzevši u obzir sva ograničenja koja ova metoda donosi, moguće je i uz stroge uvjete postići značajnu uštedu od oko tri četvrtine resursa u odnosu na izvođenje ove pretrage modificiranom Claussovom metodom što postaje vrlo relevantno u smanjenju troškova laboratorija i može činiti integralni dio uštede većih bolničkih centara.

8 Summary

Calculating fibrinogen concentration from data availalble in prothrombine time curve in samples from hospitalized patients is one of the measures of savings that a lot of laboratories use. This paper covers the data of released results of fibrinogen and derived fibrinogen in routine and emergency laboratories at Clinical Hospital Centre Zagreb in the first nine months of 2018. The total savings obtained by switching from experimental Clauss essay method to prothrombin time derived fibrinogen are 107, 897.36 kn. Because this method of measurment started in 2014, during this four years the savings are around 575,000.00 kn.

If the criteria are set up correctly, a large amount of money can be saved, and also a lot of time for issuing the coagulation report which is particularly important in emergency situations. But this method isn't comparable between laboratories and it shouldn't be used with external patients. Also, because of a great deal of defects that appear mostly in phatological state that are also more common among hospitalized patients, the criteria for using this method had to be chosen very carefully, so that the quality level of coagulation reports stays maintained, inspite of a significant reduction in the finantial burden of the laboratory. What's more, in certain phatological states, such as disseminated intravascular coagulation, the results may be even more correct than the results given by the modified Clauus technique. Of course, the plateau areas at the beginning and the end of the sigmoid curve in plasma measurments need to be taken into account. After taking in consideration all of the restrictions this method carries and providing it's being carried out under strict conditions, it's possible to achieve significant savings of about three quarters of resources. That fact becomes very relevant in reducing the laboratory expenses and it can become an integral part of savings for bigger hospital centers.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Medicinska biokemija
Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

UTJECAJ UVOĐENJA DERIVIRANOG FIBRINOGENA NA FINANCIJSKO POSLOVANJE LABORATORIJA

Martina Prkić

SAŽETAK

Izračunavanje koncentracije fibrinogena iz krivulje kojom je analizirano protrombinsko vrijeme kod hospitaliziranih pacijenata jedna je od mjera uštede koju koriste brojni laboratoriji. U ovom diplomskom radu obrađeni su podatci izdanih pretraga fibrinogena i deriviranog fibrinogena u redovnom i hitnom laboratoriju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb unutar prvih devet mjeseci 2018. godine. Ukupna ušteda laboratorija zamjenom eksperimentalne metode deriviranim fibrinogenom u tom razdoblju iznosi 107.897,36 kn. Budući da je pretraga deriviranog fibrinogena uvedena kao mjera štednje 2014. godine, tijekom te četiri godine ušteđeno je oko 575.000,00 kn.

Ako se ispravno postave kriteriji, dolazi do velike uštede financijskih sredstava, ali isto tako i uštede vremena koje je potrebno za izdavanje koagulacijskog nalaza što može biti od osobite važnosti u hitnim stanjima. Međutim, potrebno je imati na umu kako ova metoda nije međulaboratorijski usporediva te se ne bi smjela koristiti kod vanjskih pacijenata. Također, zbog velikog broja nedostataka koji se pojavljuju uglavnom u patološkim stanjima, koja su i češća kod hospitaliziranih bolesnika, bilo je potrebno jako pažljivo odrediti kriterije korištenja ove metode kako bi razina kvalitete rezultata koagulacijskih pretraga ostala očuvana unatoč značajnom smanjenju financijskog opterećenja laboratorija. Ipak, u određenim stanjima, kao što je diseminirana intravaskularna koagulacija, dobiveni rezultati mogu biti čak i točniji od rezultata izmjerenih modificiranom Claussovom tehnikom. Isto tako, treba uzeti u obzir i plato područja sigmoidne krivulje koja se primjećuju kod pretjerano niskih i visokih vrijednosti u plazmi. Ipak, uzevši u obzir sva ograničenja koja ova metoda donosi, moguće je i uz stroge uvjete postići značajnu uštedu od oko tri četvrtine resursa u odnosu na izvođenje ove pretrage modificiranom Claussovom metodom što postaje vrlo relevantno u smanjenju troškova laboratorija i može činiti integralni dio uštede većih bolničkih centara.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 22 stranice, 2 grafičkih prikaza, 4 tablica i 9 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Fibrinogen, derivirani fibrinogen, ušteda

Mentor: **Dr. sc. Dunja Rogić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Dunja Rogić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Nada Vrkić, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Desiree Coen Herak, *znanstveni suradnik Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb.*

Rad prihvaćen: studeni 2018.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Medical Biochemistry
Department of Medical Biochemistry and Haemathology
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

HOW IMPORTING DERIVED FIBRINOGEN METHOD AFFECTS FINANCIAL PERFORMANCE OF A LABORATORY

Martina Prkić

SUMMARY

Calculating fibrinogen concentration from data availalble in prothrombine time curve in samples from hospitalized patients is one of the measures of savings that a lot of laboratories use. This paper covers the data of released results of fibrinogen and derived fibrinogen in routine and emergency laboratories at Clinical Hospital Centre Zagreb in the first nine months of 2018. The total savings obtained by switching from experimental Clauss essay method to prothrombin time derived fibrinogen are 107, 897.36 kn. Because this method of measurment started in 2014, during this four years the savings are around 575,000.00 kn.
If the criteria are set up correctly, a large amount of money can be saved, and also a lot of time for issuing the coagulation report which is particularly important in emergency situations. But this method isn't comparable between laboratories and it shouldn't be used with external patients. Also, because of a great deal of defects that appear mostly in phatological state that are also more common among hospitalized patients, the criteria for using this method had to be chosen very carefully, so that the quality level of coagulation reports stays maintained, inspite of a significant reduction in the finantial burden of the laboratory. What's more, in certain phatological states, such as disseminated intravascular coagulation, the results may be even more correct than the results given by the modified Clauus technique. Of course, the plateau areas at the beginning and the end of the sigmoid curve in plasma measurments need to be taken into account. After taking in consideration all of the restrictions this method carries and providing it's being carried out under strict conditions, it's possible to achieve significant savings of about three quarters of resources. That fact becomes very relevant in reducing the laboratory expenses and it can become an integral part of savings for bigger hospital centers.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 22 pages, 2 figures, 4 tables and 9 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Fibrinogen, derived fibrinogen, savings

Mentor: **Dunja Rogić**, **Ph.D.** *Associate Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Dunja Rogić**, **Ph.D.** *Associate Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Nada Vrkić, **Ph.D.** *Associate Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Desiree Coen Herak, **Ph.D.** *Assistant Research Scientist,* University Hospital Centre Zagreb Department of Laboratory Diagnostics

The thesis was accepted: November 2018.