

İnsan Plazma ve Serum Örneklerinde Dokuz Analit Stabilitesinin Değerlendirilmesi ve Anlamlı Değişim Sınırlarının Belirlenmesi

Evaluation of Nine Analytes Stability and Determination of Their Significant Variability Limits in Human Plasma and Serum Samples

Murat Çeliker, Bünyamin Kaptanoğlu, Hülya Aybek

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, Denizli

Özet

Analiz öncesi değişkenlerle ilgili laboratuvar çalışmaları tüm dünyada hala etkinliğini korumaktadır. Plazma ve serum örneklerinin hücrelerden mümkün olduğu kadar kısa süre içinde ayrılması sonuçların doğruluğu açısından oldukça önemlidir. Hemen çalışılmayacak plazma ve serum örnekleri için en uygun saklama sıcaklıkları 4 °C veya -20 °C dir. Çalışmamızda; 9 analitin (glukoz, potasyum, fosfor, total protein, albumin, total kolesterol, trigliserid, AST, ALT) plazma ve serum örneklerinde hücrelerle 48 saat temasından sonra ve hemen santrifüj edilip hücrelerden ayrıldıktan sonra, oda ısısında (25-28°C) bekletilerek çalışılmasında stabilitesindeki değişimleri saptadık. Ayrıca bu analitlerin stabilitesindeki değişimin klinik yoruma olan etkisini gözlemledik. Sonuç olarak; hücrelerle uzamış temas halinde glukoz, potasyum ve fosforda klinik olarak anlamlı farklılıklar olduğunu saptadık (CLIA 88 kriterlerine göre). Glukozun stabilitesindeki anlamlı değişimlerin 6. saatteki ölçümlerde, potasyum ve fosfor içinse 24. saatteki ölçümlerde ortaya çıktığını saptadık. Bu üç analitin stabilitesinin son derece düşük olduğunu bulduk. Hemen ayrılan örneklerde ise bu analitlerde klinik yorumu etkileyecek düzeyde bir farklılık olmadığını saptadık. Bu da bize göstermektedir ki örneklerimizin bir an evvel hücrelerden ayrılması sonuçların güvenilirliği açısından oldukça önemlidir. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratan ancak klinik olarak etkilenmeyen analitler için de daha dikkatli davranılması gerektiğini düşünmekteyiz. *Pam Tıp Derg 2010;3(2):54-59*

Anahtar sözcükler: *Biyokimya, preanalitik, analit*

Abstract

Laboratory studies related to preanalytical variability are still of great importance all over the world. Separation of serum and plasma from blood cells as soon as possible is very important for the reliability of results obtained. The most suitable temperatures are 4°C or -20°C if the sample will not be used immediately. In this study we determined changes in the stability of 9 plasma and serum analytes (glucose, potassium, phosphorus, AST, ALT, albumin, triglyceride, total protein, total cholesterol) in plasma and serum after the centrifugation of sample in normal and extended time at in room temperature (25-28° C). In addition, we observed effects of the change in the stability of these analytes on clinical evaluation. In conclusion we found out that there were significant clinical differences in the stability of glucose, potassium and phosphorus in samples obtained after 24 hours (according to CLIA 88 criteria). Significant changes in glucose, potassium and phosphorus were observed in the 6th, 24th and 24th hours respectively. It was found out that stability of these three parameters were very weak. There was no significant difference, which can affect the clinical evaluation, in the samples separated immediately for these parameters. This means that the prompt separation of serum or plasma from blood cells is quite important for the reliability of results. We also think that parameters which make difference statistically but do not display clinical difference need more careful handling. *Pam Med J 2010;3(2):54-59*

Pam Med J 2010;3(2):54-59

Key words: *Biochemistry, preanalytic, analyte*

Hülya Aybek

Yazışma Adresi: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, Denizli

e-mail: haybek@pau.edu.tr

Yazının dergiye gönderilme tarihi: 26.04.2010

Yazının basıma kabul tarihi: 22.06.2010

Giriş

Analiz, biyolojik bir örnekteki analitin miktarını veya türünü belirlemek için gerçekleştirilen işlem basamakları iken, analit laboratuvarında ölçümü yapılan maddedir [1]. Laboratuvarında kullanılan numuneler çok çeşitlidir. Bunların başlıcaları; serum, plazma, tam kan, çeşitli sıvılar (plevral, perikardiyal), idrar ve gaitadır. Tam kan, serum veya plazması ayrılmamış kandır. Serum, pıhtılaşmış kandan şekilli elemanlar (eritrosit, lökosit, trombosit) ayrıldıktan sonra geri kalan sıvı kısımdır. Plazma, pıhtılaşması antikoagülanlarla önlenmiş kandan şekilli elemanlar ayrıldıktan sonra geri kalan sıvı kısımdır [2].

Klinik laboratuvarlarımızda karşılaşılan sorunlardan biri kimyasal analizler için santrifüje edilmemiş numunelerin bütünlüğünün korunmasındaki zorluktur. Çünkü plazma ve serumun hücrelerle uzamış teması hatalı test sonuçlarına neden olabilmektedir [2].

Bizim planladığımız çalışmadaki amacımız; oda ısısında (25-28°C) plazma ve serumun hücrelerle uzamış temasından sonra (48 saat) AST, ALT, total protein, albumin, trigliserit, total kolesterol, potasyum, fosfor, glukoz analitlerinin düzeyindeki değişimleri göstermektir. Ayrıca bu değişim düzeylerinin klinik yoruma olan etkisi değerlendirilecektir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik Kurul Başkanlığı'nın izni ile 1 Mayıs-30 Mayıs 2007 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi kan alma ünitesine başvuran bireyler arasında yapıldı. Kan alınmadan önce bireylere çalışma hakkında bilgi verilerek gönüllü katılmaları sağlanıp imzaları alındı. Sonuçların belli standartlarda olmasını sağlamak amacı ile anket formu hazırlandı (Tablo 1).

Tablo 1. Anket Soruları

Sorulan Sorular	
1	Kronik bir rahatsızlığınız/hastalığınız var mı ? Varsa belirtiniz
2	Devamlı kullandığınız bir ilaç var mı ? Varsa belirtiniz
3	Son 24 saat içinde alkol aldınız mı ?
4	Son 1 saat içinde sigara içtiniz mi ?
5	Sabah egzersizi yaptınız mı ?

İstatistiksel Analiz

Friedman iki yönlü varyans analizi ve Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanılmıştır. Aynı kişilerden farklı zaman dilimlerinde yapılan ölçümlerin değerlendirilmesinde kullanılması nedeniyle bu istatistiksel yöntemler uygulanmıştır.

Bulgular

Serum ve plazmada, ortalama ALT düzeyleri 0., 6., 24. ve 48. saatlerde santrifüje edilerek çalışılan örneklerin sonuçları arasında anlamlı fark gözlenmedi. Serum ve plazmada ALT düzeyleri 0. saatte hemen çalışılan ve 6., 24. ve 48. saatte bu örneklerin tekrar çalışılmasıyla elde edilen verilerde 48. saatten itibaren stabilitesinde anlamlı değişiklikler gözlemlendi ($p=0,0001$, $p=0,01$).

Plazma AST düzeylerinde 0., 6., 24. ve 48. saatlerde santrifüje edilerek çalışılan örneklerde anlamlı fark bulunmadı. Serum AST düzeyinde ise 48. saatten itibaren stabilitesinde anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($p=0,0001$).

Serum ve plazmada, AST düzeyinde hemen santrifüje edilip çalışılan ve örneklerin 6., 24. ve 48. saatlerde tekrarlanan ölçümlerinde 48.

saatten itibaren stabilitesinde anlamlı değişiklikler olduğu saptandı ($p=0,003$, $p=0,0001$).

Serum ve plazma glukoz düzeylerinde hem santrifüje edilip hemen çalışılan ve 6. 24. 48. saate kadar saklanıp bu saatlerde santrifüje edilerek çalışılan örnekler için hemde santrifüj edilip bu örneklerin 6., 24. ve 48. saatlerde tekrarlanan ölçüm sonuçları arasında 6. saatten itibaren başlayan istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,0001$).

Serum ve plazma total protein düzeyi 0. saatte ve saklanıp 6. 24. ve 48. saatlerde santrifüj edilip çalışılan örneklerin 24. saatten itibaren stabilitesinde anlamlı değişiklikler ortaya kondu ($p=0,0001$).

Serum ve plazma total protein düzeyi santrifüj edilip 0. saatte çalışılan örnekler ile bu örneklerin 6. 24. ve 48. saatlerde tekrar ölçümü ile yapılan değerlendirmede 48. saatten itibaren stabilitesinde anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($p=0,004$, $p=0,0001$).

Serum ve plazma, inorganik fosfor ve potasyum düzeylerinde hem hemen santrifüj edilip 0. saatte ve saklanarak 6., 24. ve 48. saatlerde çalışılan hemde 0. saatte ve saklanarak 6., 24. ve 48.

saatlerde santrifüje edilerek çalışılan örneklerde 24. saatten itibaren stabilitesinde anlamlı değişiklikler olduğu saptandı ($p=0,0001$).

Serum ve plazma trigliserid düzeyi 0. saatte ve saklanıp 6., 24. ve 48. saatlerde santrifüj edilip çalışılan örneklerin 24. saatten itibaren stabilitesinde anlamlı değişiklikler ortaya kondu ($p=0,0001$).

Serum trigliserid düzeyinde santrifüj edilip 0. saatte çalışılan örnekler ile bu örneklerin 6., 24. ve 48. saatlerde tekrar ölçümü ile yapılan değerlendirmede 24. saatten itibaren stabilitesinde anlamlı farklılıklar olduğu saptanırken ($p=0,0001$), plazma trigliserid düzeylerinde fark gözlenmedi.

Serum ve plazma total kolesterol düzeyi 0. saatte ve saklanıp 6., 24. ve 48. saatlerde santrifüj edilip çalışılan örneklerin stabilitesinde anlamlı değişiklikler ortaya kondu (serum 24. saatten itibaren $p=0,0001$, plazma 48. saatten itibaren $p=0.01$).

Serum total kolesterol düzeyinde santrifüj edilip 0. saatte çalışılan örnekler ile bu örneklerin 6., 24. ve 48. saatlerde tekrar ölçümü ile yapılan değerlendirmede 48. saatten itibaren stabilitesinde anlamlı farklılıklar olduğu saptanırken ($p=0,0001$), plazma total kolesterol düzeylerinde fark gözlenmedi.

Serum ve plazma albumin düzeyi 0. saatte ve saklanıp 6., 24. ve 48. saatlerde santrifüj edilip çalışılan örneklerin stabilitesinde anlamlı değişiklikler ortaya kondu (6. saatten itibaren serum $p=0,0001$, plazma $p= 0.026$).

Plazma albumin düzeyinde santrifüj edilip 0. saatte çalışılan örnekler ile bu örneklerin 6., 24. ve 48. saatlerde tekrar ölçümü ile yapılan değerlendirmede 48. saatten itibaren stabilitesinde

anlamlı farklılıklar olduğu saptanırken ($p=0,005$), serum albumin düzeylerinde fark gözlenmedi.

Biz ayrıca analitlerin istatistiksel olarak stabilitesindeki anlamlı değişikliklerinin yanında klinik olarak anlamlı değişim limitlerini hesapladık. Bunun için CLIA 88 (Clinical Laboratory Improvement Amendments) kriterlerini kullandık.

Bu değişim oranlarının hesaplanmasında 0. saatteki ve 48. saatteki verilerimizin ortalamaları arasındaki farkı kullandık. Bu verilere göre CLIA 88 kriterlerinde müsaade edilen hata payından daha fazla değişim gösteren analitleri hücrelerle uzamış temas durumunda glukoz, potasyum ve fosfor olarak bulduk. Hücrelerle uzamış temas sonunda glukoz, potasyum ve fosforun hem istatistiksel hem de klinik olarak stabilitesinin bozulduğu sonucunu ortaya koyduk. Bu analitlerin bu nedenle hemen hücrelerden ayrılarak saklanması gerektiğini ortaya koyduk. Diğer analitler için de daha dikkatli olmak ön koşuluyla oda sıcaklığında 48 saat boyunca saklanmasında klinik yorumu etkilemeyecek kadar düşük değişimler bulduk.

Anlamlı değişim limiti (SCL), metodun günler arası değişkenliğinden kaynaklanan hesaplanmış standart sapmanın 2.8 katı olarak tanımlanmıştır [4]. Bu sonuçlara göre hücrelerle uzamış temas sonunda anlamlı değişim limitini aşan analitleri glukoz, potasyum ve fosfor olarak bulduk. Bu sonuçlar CLIA 88 kriterlerine göre klinik anlamlılık değerlendirilmesiyle uyumluluk göstermekteydi.

Biz alışmamızda yöntemimizin tekrarlanabilirliğini saptamak için gün içi ve günler arası % CV (coefficient of variation) değerlerini hesapladık (Tablo 2).

Tablo 2. Analitlerin gün içi tekrarlanabilirlik sonuçlarından elde edilen % CV' ler

Analit Adı	Firma hedef %CV	Kontrol sonuçları %CV
Albumin	%6,0	%2,6
ALT	%6,0	%2,9
AST	%6,0	%2,5
Fosfor	%5,0	%2,2
Glukoz	%5,0	%3,1
T.Kolesterol	%5,0	%2,9
Potasyum	%3,0	%1,9
T.Protein	%4,0	%2,4
Trigliserit	%5,0	%3,6

Çalışmamızda Mayıs ayındaki günler arası tekrarlanabilirliği değerlendirmek amacıyla analitlerin % CV lerini hesapladık. Bunun için kontrol serum sonuçlarımızı (n=30) kullandık. Tüm analitlerimizin % CV lerini hedef % CV lerden daha küçük bulduk. Bu da bize yöntemimizin günler arası tekrarlanabilirliğinin iyi olduğunu gösterir.

Tartışma

Bir test için laboratuvar süreci, örneğin alınmasından raporlanmasına kadar geçen basamakları içerir. Bu basamaklar analiz öncesi (preanalitik), analiz (analitik), analiz sonrası (postanalitik) olarak gruplanabilir. Her basamak aynı zamanda potansiyel bir hata kaynağıdır. Bu hataların önemli bir kısmı analiz öncesi basamağına aittir. Preanalitik hata kaynaklarının en az kontrol edilebilmesi bunun nedenidir. Analitik basamak kalite kontrol prosedürleriyle kontrol edilebilirken, preanalitik dönemde hata veya hataların ne zaman ortaya çıktığı sıklıkla belirlenememekte böylece test sonucunun hastanın gerçek sonuçları ile uygun olmadığı durumlar gelişebilmektedir.

Biz çalışmamızda preanalitik hata kaynaklarından hücrelerden hemen ayrılmayan örneklerdeki analit düzeylerinin stabilitesini değerlendirdik. Stabilitate, belirli bir dönem boyunca belli koşullar altında, ortalama değişikliğin elde edilen verilerin standart sapmasından daha düşük olmasıdır. Klinik kimyada stabilitenin kritik değeri vardır fakat bu yöndeki çalışmalar ihmale uğramıştır [5].

Laboratuvarımıza analiz edilmek üzere gelen örneklerin santrifüj edilip 10 dk içinde çalışılmaması test sonuçlarını olumsuz etkilemektedir. Bu durum sonuçların klinisyene yanlış ulaşmasına neden olabilmektedir. Serum-pıhtı arasındaki temas süresi uzadığında hem hücrelerin biyolojik aktivitesi hem de analitlerin hücre içerisine geçebilmeleri söz konusu olup bazı analitlerin serum konsantrasyonları değişebilmektedir [6].

Biz çalışmamızda ALT, AST, glukoz, total protein, albumin, total kolesterol, trigliserit, potasyum ve inorganik fosfor olmak üzere dokuz analitin oda sıcaklığındaki (25-28 °C) değişimini santrifüje edilmeden bekletilen serum ve plazma örneklerinde 6. 24. ve 48. saatteki değişimlerini hemen santrifüje edilen örnekler ile karşılaştırdık. Böylece bu 9 analitin hücrelerle uzamış temasının sonuçlara olan etkisini araştırdık. Ayrıca bu çalışmamızda hemen santrifüje edilip ayrılan örneklerin yine oda ısısında bekletilip 6. 24. ve 48. saatte tekrar çalışılmasıyla elde edilen değişiklikleri

de saptadık. Bu 9 analiti seçmemizdeki neden bu analitlerin, hastanemiz aylık test çalışma sayılarına göre en fazla sayıda istenen analitler içinde olmasıydı.

Çalışmamıza 18-60 yaş arasındaki bireyler dahil edildi ve kadın-erkek arasında istatistiksel farklılık olmayacağı varsayıldı. Yapılan çalışmalar da göstermektedir ki bazı biyokimyasal analitler hemolizden çeşitli derecelerde etkilenmektedir [7-10]. Bu sebeple bu örneklerin çalışma dışı bırakılması planlandı. Bu amaçla tüm örneklerimizin hemoglobin değerleri ölçüldü. Hemoglobini 5000 mg/L den daha büyük olan bir örneğimiz olmadığı için başta planladığımız tüm örnekler çalışmaya dahil edildi.

Çalışmamızda hücrelerle uzamış temas sonrasında, 48 saat boyunca 25-28°C de bekletilen örneklerde klinik olarak anlamlı değişiklikleri glukoz, potasyum ve fosfor analitlerinin düzeylerinde tespit ettik. Bu anlamlı değişikliklerin glukoz düzeyinde 6. saatten, potasyum ve fosfor düzeylerinde ise 24. saatten itibaren başladığını saptadık. Bu sonuçlar bize göstermiştir ki glukoz, potasyum ve fosfor düzeylerinin hücrelerle uzamış temastan etkilenmemesi için bir an evvel örnekler santrifüj edilmelidir.

İstatistiksel olarak ise glukoz, potasyum ve fosforun yanı sıra total kolesterol, trigliserit, total protein ve albumin düzeylerinde de anlamlı farklılıklar olduğunu saptadık. Bu analit düzeyleri istenen örneklerimizin bekletilerek çalışılması durumunda daha dikkatli davranmamız gerektiğini göstermektedir. AST ve ALT düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığını tespit ettik. Çalışmamızın 48 saatten daha uzun sürmesi halinde bu analit düzeylerinde de bir takım farklılıkların olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Glukoz düzeyindeki düşmeyi glikolize, inorganik fosfor düzeyindeki yükselmeyi intraselüler hidroliz sonucunda fosforun eritrositten çıkıp plazmaya geçişine, potasyum düzeyindeki yükselmeyi ise Na-K pompa yetersizliğine bağlı olarak açıklayabiliriz. Uygun antiglikolitik madde kullanımının glukoz düzeyindeki düşmeyi engelleyeceği, pentoz-fosfat yolu ile de NADPH oluşumunun devamını sağlayacağı, sonuç olarak hücrenin hemoliz olması belli bir süre de olsa engellenerek plazma potasyum ve fosfor düzeylerinin stabilitesinin korunabileceği kanaatindeyiz. Çalışmamız, hücrelerle uzamış temas durumunda klinik olarak anlamlı (CLIA 88 kriterleri) değişiklikler gösteren glukoz, potasyum ve fosfor düzeylerinin böylece belli

sürede olsa stabilitelerinin korunmasında faydalı olacağını göstermektedir.

Çalışmamızda hücrelerle uzamış temas durumunda total protein ve albumin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu bulduk. Bu anlamlı değişiklikler total proteinin hücre içi konsantrasyonunun (16 g/dl), hücre dışına (2 g/dl) göre daha fazla olmasından kaynaklanabilir. Böylece eritrosit membran bütünlüğünün zamanla bozulması sonucu hücre içinden hücre dışına doğru geçişi söz konusu olabilmektedir.

Total kolesterol düzeyindeki hücrelerle uzamış temas düzeyindeki artışları da aynı şekilde hücre içindeki kolesterolün hücre dışına çıkması şeklinde açıklayabiliriz.

Çalışmamızda ALT düzeylerinin hücre içi konsantrasyonlarının hücre dışına göre daha fazla olması nedeniyle uzamış temas durumunda daha yüksek değerler bulmayı bekledik. Ancak ALT düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler bulamadık. Devam eden glikoliz sonucu oluşan laktat hücre dışına geçer ve LDH enzimiyle piruvata çevrilir. ALT; Alanin+ α -ketoglutarat \rightarrow Glutamat+Piruvat reaksiyonunu katalizler. Piruvatın hücre dışında aşırı çoğalması sonucu bu reaksiyon yavaşlayarak ALT aktivitesi düşmüş olabilir. Bu şekilde bir denge sağlanmış olabilir.

Çalışmamızda hücrelerle uzamış temas durumunda AST ve ALT düzeylerinin hemen ayrılan örneklerle göre stabilitesinin daha iyi olduğunu saptadık. Bu analitlerin hücre içi düzeylerinin hücre dışına göre daha fazla olması zamanla bozulan hücre yapısıyla plazmaya geçerek yüksek sonuçlar elde edilmesine neden olabilir. Ancak oda ısısında aktivitelerindeki düşmeyle bir denge sağlanmış olabilir. Hemen ayrılan örneklerimizde ise sadece aktivitesinde düşme olması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturduğunu saptadık.

Biz ayrıca hemen santrifüje edilip ayrılan örneklerin oda sıcaklığında bekletilerek 6. 24. ve 48. saatte çalışılmasıyla zaman içindeki değişimlerini de saptadık.

Trigliserit ve total kolesterolün plazmada, albuminin de serumda stabilitesinde istatistiksel olarak farklılık olmadığı, diğer analitler için ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu sonucuna vardık. Ancak hemen santrifüje edilerek ayrılan örneklerde bütün analitlerin oda sıcaklığında 48 saat boyunca saklanması klinik olarak anlamlı olmayan değişimler saptandı. Ancak istatistiksel olarak farklılık

olduğu için bu konuda daha dikkatli davranılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Zhang ve ark. [6] yaptıkları çalışmada serum-pıhtı kontakt zamanının laboratuvar sonuçlarına olan etkilerini araştırmışlardır. Her kan örneği 4 adet tüpe alınarak kontrol serumu 30 dk. içerisinde pıhtıdan ayrılarak elde edilmiş, diğer tüpteki kanlar 32 °C de inkübe edilerek 3. 6. ve 24. saatlerde ayrılmış ve toplam 63 analit çalışılmıştır. Bu analitler içinde potasyum, fosfor ve glukozun en az stabil olduğu bulunarak 3 saat içerisinde serumun pıhtıdan ayrılması gerektiğini saptamışlardır. Bizim yaptığımız çalışmada da bu 3 analitin en düşük stabilizeye sahip olduğunu bulmuştuk. Çalışmamızda hem istatistiksel olarak hem de klinik olarak anlamlı değişiklik gösteren sadece bu üç analitti.

Boyanton ve ark. [11] 24 analitin plazma ve serumda santrifüje edilmemiş tüplerde kan hücreleri ile uzamış teması sonrasındaki stabilitesini araştırmışlar. Tüm örnekler bizim çalışmamızda olduğu gibi oda sıcaklığında saklanmış ve 0,5-4-8-16-24-32-40-48-56. saatlerde çalışılmıştır. Plazma ve serumda potasyum, glukoz, inorganik fosfor, kreatinin, albumin, plazmada total protein, total kolesterol, magnezyum, ALT' nin anlamlı değişim limitlerini aştığını bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda farklı olarak ALT' nin plazmada stabilitesini koruduğunu tespit ettik. Bunun nedeninin ise bizim yaptığımız çalışmanın 48. saate kadar sürmesi oysa ki yapılan bu çalışmada ALT için bu farklılığı yaratan ölçümler 48. saat ve 56. saatteki değerlerden kaynaklanmıştı. Aynı zamanda hemen hücrelerden ayrılan örnekleri çalışıp oda sıcaklığında oldukça stabil olduğunu göstermişler. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde hücrelerle uzamış temas durumunda glukoz, potasyum ve inorganik fosforda klinik olarak anlamlı fark olmakla birlikte hemen ayrılan örneklerde bu analitler için klinik olarak anlamlı olmayan değişimler göstermekteydi.

Chu ve ark. [12] yaptıkları çalışmada oda ısısında 3 günlük serum-pıhtı temas sonuçlarını araştırmışlardır. Depolanan örneklerle 3 saat içerisinde ayrılan serum örneklerini karşılaştırmışlardır. 3 gün sonunda glukoz düzeyinde %60 azalma, inorganik fosfor düzeyinde %180 artma, potasyum düzeylerinde %77 artma olduğunu saptamışlar. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla tutarlılık göstermekteydi.

Heins ve ark. [13] serumda 22 analit üzerine zaman ve sıcaklığın etkisini araştırmışlardır. 9 °C de 7 gün boyunca depolanan serum örneklerinde inorganik fosfor ve LDH' da

German Federal Medicine Council' in rehberine göre izin verilebilen hata payını aşmış, diğer analitler ise stabil kalmıştır. Oda sıcaklığında ise serumda inorganik fosfor, ürik asit, HDL, trigliserit sürekli artış göstermiş bunun yanı sıra bilirubin, LDL, CK ve AST izin verilebilen değerlerden daha fazla azalmıştır. 9 °C de 7 gün boyunca depolanan örneklerde sadece stabil kalan analitler kalsiyum, üre, total kolesterol, HDL, LDL, trigliserit, CK, GGT olarak bulunmuştur. Oda sıcaklığında 3 gün sonra stabilitesini koruyan analitlerse; sodyum, ürik asit, bilirubin, kolesterol, trigliserit, AST, ALT, ALP olarak bulunmuştur.

Hanok ve Kuo yaptıkları çalışmada[14] buzdolabı (10°C) ve derin dondurucuda (-15°C) saklanan serum örneklerinde sıcaklığın bazı analitler üzerindeki etkisini araştıran bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarının sonunda depolanan serum örneklerinin -15 °C de 3 haftadan daha fazla, 10 °C de ise 5 gün süreyle stabilitesini koruyabildiğini saptamışlardır. Örneklerin bizim sakladığımız derecelerden farklı ısılarda depolanması yönünden çalışmamızdan farklılık göstermektedir.

1981 yılında Ono T. ve ark. yaptıkları bir çalışmada sıcaklığın ve antikoagülan içermeyen kanın serum ile temas süresinin 25 analit üzerine olan etkisini araştırmışlardır [15]. Çalışmalarında 0, 2, 4, 6, 8, 24 ve 48. saatlerde 4, 23, 30 °C sıcaklıktaki ortamlarda serum örneklerindeki değişimlerini analiz etmişlerdir. 48 saat boyunca her 3 sıcaklık değeri içinde bilirubin, albumin, ALP, total kolesterol, trigliserit, amilaz, BUN, kreatinin, ürik asit ve GGT' nin etkilenmediği saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda benzer şekilde serumda albumin ve plazmada da total kolesterol ve trigliseridin stabilitesini koruyabildiğini bulmuştuk. Bizim çalışmamızda farklı olarak serumda total kolesterol ve trigliseridin stabilitesini koruyamadığını ancak klinik olarak anlamlı değişimler göstermediğini tespit ettik.

Bizim çalışmamızda sonuç olarak; oda ısısında (25-28 °C) hücrelerle uzamış temas durumunda glukoz, potasyum ve inorganik fosfor düzeylerinde serum ve plazmada klinik olarak anlamlı farklılıklar olduğunu saptadık. Hücrelerden hemen ayrılan örneklerde ise oda ısısında 48 saat bekletilerek çalışılmasında bu 3 analit dahil tüm analit düzeylerinde klinik olarak anlamlı bir fark bulamadık. Bu sonuca göre örneklerimizin hücrelerden bir an evvel ayrılarak çalışılması glukoz, potasyum ve inorganik fosfor düzeyinin doğru ölçümleri için son derece önemlidir.

Kaynaklar

1. Tietz. Klinik Kimyada Temel İlkeler. Burtis CA, Ashwood ER. Çeviri editörü: Prof. Dr. Diler Aslan. 5. Baskı Palmiye Yayınevi, Ankara; 2005.
2. Young DS, Bermes EW. Specimen collection and other preanalytical variables. In Burtis CA, Edward RA. eds. Tietz textbook of clinical chemistry. Philadelphia : W.B sounders company 2001; 30-53.
3. Daniel HR. Examination of blood. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsolin URI, eds. Williams Hematology sixth edition. McGraw Hill Medical Publishing Division 2001; 9-16.
4. Passey RB. Quality control for the clinical chemistry laboratory. Clinical chemistry : theory, analysis and correlation. In Kaplan LA, Pesce MA. eds. Boston : St. Mosby, 1996; 387-8.
5. Ralph E. Thiers, Gaw T. Wu, Allen H. Reed, and Lawrence K. Oliver. Sample stability: A suggested definition and method determination. Clin Chem 1976; 22: 176-83.
6. Zhang DJ, Elswick RK, Miller WG, Bailey JL. Effect of serum-clot contact time on Clinical Chemistry laboratory results. Clin Chem 1998; 44: 1325-33
7. Frank JJ, Bermes EW, Bickel MJ, Watkins BF. Effect of in vitro hemolysis on chemical values for serum. Clin Chem 1978; 24: 1966-70.
8. Caraway WT. Chemical and diagnostic specificity of laboratory tests. Effect of hemolysis, lipemia, anticoagulants, medications, contaminants, and other variables. Am J Clin Pathol 1962; 37: 445-64.
9. Laessig RH, Haessemmer DJ, Paskay TA, and Schwartz TH. The effects of 0,1 and 1,0 percent erythrocytes and hemolysis on serum chemistry values. Am J Clin Pathol 1976; 66: 639.
10. Sonntag O. Haemolysis as an interference factor in clinical chemistry. Clin Chem Clin Biochem 1986; 24: 127-39.
11. Boyanton BL, Blick KE. Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. Clinical Chemistry 2002; 48: 2242-7.
12. Chu SY, MacLeod J. Effect of three-day clot contact on results of common biochemical tests with serum. Clin Chem 1986; 32: 2100.
13. Heins M, Heil W, Withold W. Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995; 33: 231-8.
14. Hanok A, Kuo J. The stability of a reconstituted serum for the assay of 15 chemical constituents. Clin Chem 1968; 14: 58-69.
15. Ono T, Kitaguchi K, Takehara M, Shiiba M, Hayami K. Serum constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. Clin Chem 1981; 27:35-8.