# ODREĐIVANJE SERUMSKE KONCENTRACIJE ELEKTROLITA U SPREMNIKU ZA UZIMANJE KRVI S I BEZ SEPARACIJSKOG GELA

**Bašić, Marijana**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split / Sveučilište u Splitu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:176:150501

*Rights / Prava:* In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-03-29**

Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
SVEUČILIŠTE U SPLITU

*Repository / Repozitorij:*

Repository of the University Department for Health Studies, University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
Podružnica
SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Marijana Bašić**

# ODREĐIVANJE SERUMSKE KONCENTRACIJE ELEKTROLITA U SPREMNIKU ZA KRV S I BEZ SEPARACIJSKOG GELA

**Završni rad**

Split, 2019

SVEUČILIŠTE U SPLITU
Podružnica
SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Marijana Bašić**

# ODREĐIVANJE SERUMSKE KONCENTRACIJE ELEKTROLITA U SPREMNIKU ZA KRV S I BEZ SEPARACIJSKOG GELA

# DETERMINATION OF SERUM CONCENTRATION OF ELECTROLYTES IN CONTAINER FOR BLOOD WITH AND WITHOUT SEPARATION GEL

**Završni rad/ Bachelor's Thesis**

**Mentor:**
**Doc.dr.sc.Nada Bilopavlović**

Split, 2019

# SADRŽAJ


1. UVOD ..... 4
   1.1 Predanalitički uzroci varijabilnosti laboratorijskih rezultata ..... 5
   1.2 Elektroliti u krvi ..... 7
      1.2.1 Natrij ..... 7
      1.2.2 Kalij ..... 8
      1.2.3 Klorid ..... 8
   1.3 Određivanje elektrolita ..... 9
      1.3.1 Metode određivanja elektrolita ..... 9
      1.3.2 Vrste uzoraka za određivanje koncentracije elektrolita ..... 10
      1.3.3 Pohrana uzoraka za određivanje elektrolita ..... 11
   1.4 Spremnici za uzorkovanje krvi ..... 12
2. CILJ RADA ..... 17
3. MATERIJALI I METODE ..... 18
   3.1 Uzorak ..... 18
   3.2 Metoda za određivanje koncentracije natrija, kalija i klorida u serumu ..... 18
   3.3 Statistika ..... 19
4. REZULTATI ..... 20
   4.1. Natrij ..... 20
   4.2 Kalij ..... 23
   4.3 Klor ..... 27
5. RASPRAVA ..... 31
6. ZAKLJUČAK ..... 34
7. LITERATURA ..... 35
8. SAŽETAK ..... 36
9. ABSTRACT ..... 38
10. ŽIVOTOPIS ..... 40

# 1. UVOD

Laboratorijska dijagnostika ili medicinska biokemija bavi se *in vitro* analizom humanog biološkog materijala poput krvi, plazme, urina, likvora, plodne vode, punktata, stolice, primjenom biokemijskih i molekularno biotehnoloških metoda u svrhu: potvrde ili isključenja prisutne bolesti, praćenja razvoja bolesti i učinka terapije, predviđanja ishoda liječenja, te utvrđivanja potencijalnog rizika pojave bolesti (9).

Preduvjet dobre laboratorijske prakse je standardizacija svih postupaka u laboratorijskom procesu koja još uvije nije dovršena za cjeloviti laboratorijski proces. Standardizacijom je u najvećoj mjeri unaprijeđena analitička faza zbog primjene automatiziranih standardiziranih metoda. Automatizacija, koju je omogućio brz tehnološki i informatički razvoj, olakšala je i standardizaciju predanalitičke faze. No, za razliku od analitičke faze, predanalitička faza još uvijek najviše pridonosi varijabilnosti laboratorijskih rezultata zbog nemogućnosti standardizacije apsolutno svih čimbenika utjecaja.

Točan i pouzdan laboratorijski nalaz interpretira liječnik nakon racionalno odabranih odgovarajućih laboratorijskih pretraga. Temeljem laboratorijskog nalaza donose se odluke o medicinskim postupcima, liječenju i dijagnozi pa točnost i pouzdanost takovog rezultata mora biti neupitna.

Uzroci varijabilnosti laboratorijskih rezultata, pa tako i rezultata određivanja elektrolita u serumu, mogu biti brojni ali većini je izvor predanalitička faza laboratorijskog procesa.

## 1.1 Predanalitički uzroci varijabilnosti laboratorijskih rezultata

Uzrok varijabilnosti laboratorijskog rezultata može biti pogreška u bilo kojoj fazi laboratorijskog procesa. Najveći broj pogrešaka koji izravno može utjecati na rezultat mjernog parametra događa se u predanalitičkoj fazi laboratorijskog procesa. Osim grubih pogrešaka koji su izravni uzrok pogrešnog laboratorijskog rezultata postoje i mnogi drugi uzroci varijabilnosti rezultata. Uzroci varijabilnosti laboratorijskih rezultata mogu se podijeliti na biološke (dugotrajne i kratkotrajne) i metodološke.

Dugotrajni biološki čimbenici su genetički (spol, rasa, nasljedne greške,sklonost prema bolesti), životna dob (novorođenčad, djeca do puberteta, odrasle osobe, starija životna dob), ekološki (fizikalni, kemijski i biološki učinci okoliša) i navike (pušenje, alkoholizam, sredstva ovisnosti).

Kratkotrajni biološki čimbenici su metabolički (prehrana, tjelesni napor, emocionalni stres), hemodinamički (položaj tijela), dnevni ritam kao i indukcija mikrosomskih jetrenih enzima i drugi. Laboratorijski stručnjak nema izravan utjecaj na kratkotrajne biološke čimbenike osim putem pravilnih uputa o pripremi pacijenta za odgovarajuću pretragu.

Dugotrajni čimbenici su nepromjenjivi, a njihov učinak na rezultate laboratorijske pretrage se može ukloniti primjenom odgovarajućih referentnih intervala za određeni analit. Dugotrajne i kratkotrajne biološke čimbenike još svrstavamo u čimbenike *in vivo* dok su čimbenici *in vitro* oni čiji se učinak može ostvariti za vrijeme uzorkovanja ili nakon a, dijelimo ih na endogene i egzogene.

Endogeni čimbenici su hemoliza, ikterija, te lipemija. Hemoliza označava raspadanje krvnih stanica pri čemu dolazi do izlaska staničnih sastojaka u izvanstaničnu tekućinu. Endogena je ukoliko nastaje *in vivo* i tada je dio patofiziološkog procesa koji je do nje doveo, a egzogena nastaje *in vitro* uslijed nepravilnih postupaka tijekom vađenja krvi ili nakon kao što je preduga primjena podveske krvne žile, pritiskanje ubodnog mjesta, traumatična punkcija i dr. Ikterija je povećana količina bilirubina u krvi koja uzrokuje izrazito žutu boju seruma a može interferirati kod određivanja nekih drugih analita u serumu. Lipemiju uzrokuje povećana količina triglicerida i lipoproteina, a opaža se kao zamućenje seruma te također može na razne načine interferirati u mjerenjima.

Egzogeni čimbenici *in vitro* odnose se na one supstance koje ulaze u krv prije, tijekom i nakon vađenja krvi pa mogu interferirati kod određivanja nekih analita. Takav je primjerice 70% etilni alkohol kojeg koristimo kao dezinfekcijsko sredstvo prilikom vađenja krvi, a koje može prouzrokovati netočni rezultat prilikom određivanja alkohola u krvi, zatim antikoagulans ukoliko se krv prelijeva iz jednog spremnika u drugi kod otežanih vađenja krvi pa npr. antikoagulans EDTA završi u uzorku za biokemijske pretrage te može prouzrokovati lažno snižene koncentracije urata jer EDTA inhibira urikazu ili pak kalcija jer ga kompleksira i dr.

U metodološke čimbenike ubrajamo mnoge čimbenike koji se odnose na postupak uzimanja krvi i drugih vrsta uzoraka te na sve postupke s uzorkom prije same analize. Metodološki čimbenici od velikog su značaja u predanalitičkoj fazi jer mogu biti uzrok varijabilnosti rezultata kao i uzrok potpuno pogrešnom rezultatu.. Uzimanje krvi se obavlja po smjernicama hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu (prema CLSI smjernicama H3-A6 2010, WHO ili Svjetske zdravstvene organizacije), Zagreb, ožujak 2014 (01-2014/v.1) (2).

Uzorci krvi uzeti izvan laboratorija transportiraju se na optimalnoj temperaturi, dostavljaju do laboratorija, odvaja se serum ili plazma od staničnih elemenata (1).

Odvajanje seruma ili plazme od staničnih elemenata krvi uključuje centrifugiranje spremnika s uzorcima krvi. Centrifugirani uzorci u spremnicima se mogu koristiti kao primarni i kao takvi stavljati direktno na analizator. Serum izdvojen centrifugiranjem se koristi za većinu biokemijskih pretraga. Serum se može izdvojiti centrifugiranjem nakon što se dogodio proces koagulacije.

Daljnje postupanje sa uzorcima krvi u laboratoriju odvija se po radnim naputcima pojedinačnog radilišta unutar svakog laboratorija ovisno o tome je li riječ o koagulacijskim pretragama, ABS-u (acidobaznom statusu), hematološkim pretragama, biokemijskim pretragama i dr.

## 1.2 Elektroliti u krvi

Elektroliti u krvi uključuju nekolicinu kationa i aniona od kojih su glavni natrij, kalij i klorid te su jedna od najčešće traženih laboratorijskih pretraga zbog uključenosti u mnoge fiziološke pa stoga i patofiziološke procese.

Elektroliti imaju važnu funkciju u održavanju ravnoteže i raspodjele vode, normalnog osmotičkog tlaka, acido bazične ravnoteže i održavanju neuromuskularne podražljivosti (1). Mnogi su elektroliti kofaktori, aktivatori ili inhibitori mnogih enzima te imaju važnu ulogu u metaboličkim procesima (1).

### 1.2.1 Natrij

Natrij je glavni kation izvanstanične tekućine. Natrij u organizam unosimo uobičajenom prehranom čime se zadovoljavaju dnevne potrebe organizma za ovim kationom. Apsorbira se u crijevima. Osmotički tlak plazme ovisi o koncentraciji natrija koja u najvećoj mjeri utječe na ravnotežu tekućina. Ravnotežom vode i protokom krvi kroz bubrege velikim dijelom upravljaju mineralokortikosteroidni hormon aldosteron, reninsko-angiotenzinski sustav i srčani natrijuretički peptidi i to upravo kontrolom koncentracije natrija u krvi.

Izlučivanje natrija ovisi o njegovoj koncentraciji u krvi. Natrij ima prag izlučivanja (110-130 mmol/L seruma), što znači da će se mokraćom izlučivati više natrija ako mu koncentracija u serumu poraste tj. izlučivat će se manje natrija ako mu koncentracija u serumu padne.(1) Snižena koncentracija natrija u krvi ili hiponatrijemija može biti uzrokovana gastrointestinalnim poremećajima, bubrežnim bolestima, oslabljenim radom nadbubrežne žlijezde (Addisonova bolest), jakom diurezom, te raznim infektivnim bolestima. Hipernatrijemija (povećana koncentracija natrija u krvi) je prisutna prilikom pojačanog rada nadbubrežne žlijezde (Cushingov sindrom), pretjeranog gubitka tekućine, oštećenja mozga i dr.

Normalna koncentracija u serumu je 136-147 mmol..

## 1.2.2 Kalij

Kalij je glavni stanični kation. Kalij se u organizam unosi uobičajenom prehranom. Apsorbira se u tankom crijevu, a iz organizma izlučuje 90% urinom i 10% stolicom. Hipokalijemija je smanjena koncentraciju kalija u krvi koja se opaža kod jake diureze, povraćanja, proljeva, dilucije izvanstanične tekućine, nepovoljne prehrane i dr.
Hiperkalijemija ili povišena koncentracija kalija u krvi može biti posljedica povećanog unosa, redistribucije iz stanica ili pak posljedica smanjenog izlučivanja kod bubrežnih bolesti ili učinka kalij štedećih diuretika.

Normalna koncentracija u serumu je 3,5-5,0 mmol.

## 1.2.3 Klorid

Klorid je glavni anion izvanstranične tekućine. U organizam se unosi dnevnom prehranom u dovoljnim količinama. Apsorpcija klorida odvija se u tankom crijevu. Klorid se manjim dijelom iz organizma izlučuje znojem. Klorid je također uz natrij glavni čimbenik u održavanju ravnoteže tekućine, osmotičkog tlaka i acidobazične ravnoteže.

Hipokloremiju ili sniženu koncentraciju klorida u serumu nalazimo kod raznih gastrointestinalnih poremećaja, kod nekih infektivnih bolesti osobito upale pluća zbog gubitka klorida znojenjem i stvaranjem pleuralnog eksudata, zatim kod kroničnih bubrežnih bolesti i dr.

Hiperkloremiju ili povećanu koncentraciju klorida u krvi nalazimo u stanjima dehidracije i hemokoncentracije, dekompenziranih srčanih bolesti, respiracijskoj alkalozi i dr. Uglavnom promjene klorida u serumu prate iste promjene natrija.

Normalna koncentracija u serumu je 95-105 mmol.

## 1.3 Određivanje elektrolita

Patofiziološka stanja kod kojih je važno određivanje koncentracije elektrolita u serumu prvenstveno su stanja u kojima dolazi do poremećaja razine vode kao što su dehidracija, bubrežne bolesti, gastrointestinalni poremećaji praćeni povraćanjem i proljevom, edematozna stanja, metabolička acidoza i alkaloza, poremećaji rada nadbubrežne žlijezde (Addisonova bolest, Cushingov sindrom). Duge i iscrpljujuće dijete također mogu biti uzrok disbalansa elektrolita. Elektroliti se pojačano gube i tijekom znojenja, osobito natrij i kloridi pa je moguć disbalans i tijekom velikih vrućina i pojačane fizičke aktivnosti ukoliko se ne vodi računa o dovoljnom unosu. Elektrolite je moguće određivati u krvi, mokraći, znoju i drugim tjelesnim tekućinama. Mogu se određivati u punoj krvi najčešće u sklopu pretraga acidobaznog statusa, te u serumu ili plazmi odvojenoj u spremnicima predviđenim za uzimanje krvi za biokemijske pretrage.

### 1.3.1 Metode određivanja elektrolita

Metode određivanja koncentracije natrija i kalija u serumu, plazmi, urinu ili likvoru su plamena emisijska fotometrija kao referentna metoda i potenciometrija kao preporučena metoda koja je ujedno i najzastupljenija u rutinskom laboratorijskom radu.

Potenciometrija kao preporučena metoda za određivanje koncentracije natrija i kalija metoda je čiji princip koriste mnogobrojni automatski analitički sustavi. Princip potenciometrijskog određivanja nekog iona u otopini pa tako i u krvi uključuje primjenu ion selektivnih elektroda za svaki pojedini ion tj. indikatorskih elektroda kao i referentne elektrode, a mjeri se elektropotencijal kojeg ioni iz otopine (krvi) stvaraju na indikatorskoj elektrodi u usporedbi s referentnom elektrodom. Razlika elektrokemijskog potencijala između indikatorske elektrode i referentne elektrode je razmjerna koncentraciji iona (natrij/kalij/klorid) u otopini odnosno krvi/serumu. Elektropotencijal se pretvara u napon a napon pak u koncentraciju iona u uzorku primjenom standardnih otopina za mjerene ione. Postoje dvije vrsete

potenciometrijskih metoda:direktna i indirektna. Razlikuju se po tome što se u indirektnoj potenciometriji uzorak u mjernoj posudi miješa s diluentom velike ionske jakosti. Ovo razrjeđivanje uzorka je potrebno kako bi se povećao volumen uzorka da bi mogao oplahivati relativno veliku površinu elektrode te kako bi se smanjila koncentracija proteina prisutnih iz uzorka na površini elektrode Pogreške u mjerenju sa ion selektivnim elektrodama mogu uzrokovati nedovoljna selektivnost elektroda, oblaganje membrana ion selektivnih elektroda s proteinima, te onečišćenje membrana elektroda ionima koji utječu na reakciju. Potenciometrija je referentna metoda i za određivanje koncentracije klorida u tjelesnim tekućinama (serumu, plazmi, urinu i likvoru), dok je za određivanje klorida u znoju preporučena merkurimetrijska titracija sa živinim nitratom.

## 1.3.2 Vrste uzoraka za određivanje koncentracije elektrolita

Koncentraciju elektrolita određujemo u uzorcima pune krvi, u uzorcima seruma, plazme, urina, likvora, sline i znoja, a moguće je i u drugim tjelesnim tekućinama poput pleuralnog izljeva. Najčešće se ipak elektroliti određuju u uzorcima seruma ili plazme i urina.

Serum je defibrinogenizirana krvna tekućina koja se dobije odvajanjem nakon dovršenog procesa koagulacije. Spremnik za odvajanje seruma s uzetom krvi se ostavlja pola sata nakon vađenja kako bi se dogodio proces koagulacije. Potom se takav uzorak centrifugira kako bi se krvna tekućina ili serum odvojila od staničnih elemenata nakon koagulacijskog procesa. Postoje dvije vrste spremnika za odvajanje seruma, spremnik s i bez separacijskog gela. Kod spremnika sa separacijskim gelom tijekom centrifugiranja gel se postavlja između seruma i staničnih elemenata i na taj način se sprječava njihov daljnji međusobni kontakt. Kod spremnika bez separacijskog gela stanični elementi su u stalnom kontaktu sa serumom ukoliko se fizički ne odvoje u drugi spremnik. U takvoj vrsti spremnika s vremenom dolazi do izmjene tvari između stanica i krvne tekućine, a također stanice degradiraju i njihov sadržaj izlazi van što ukupno može imati učinak na koncentracije mjernih analita.

### 1.3.3 Pohrana uzoraka za određivanje elektrolita

Stabilnost uzorka predstavlja sposobnost biološkog materijala da zadrži početnu vrijednost mjerne varijable unutar definiranih granica tijekom unaprijed određenog vremenskog razdoblja, i kada je pohranjen pod određenim uvjetima (1). Pohrana uzoraka važan je segment radnog procesa u laboratoriju. Uzorci se pohranjuju iz više razloga: za slučaj kada analiza ne može biti napravljena odmah, sa svrhom ponavljanja analize istog uzorka te radi izrade dodatnih analiza za lakše postavljanje dijagnoze (refleksna ispitivanja) (1).

Način pohrane bioloških uzoraka ovisi i o samoj prirodi uzorka te o stabilnosti analita koji će se u njemu određivati te je velikim dijelom i uvjetovana stabilnošću pojedinih analita.

Uzorci obrađene krvi se pohranjuju na kraće vrijeme najčešće na temperaturi od 4 do 8°C. No vrijeme koje proteče od vađenja krvi do pohrane u hlađene uvjete može varirati kao i zatvaranje spremnika s uzorkom obrađene krvi u svrhu sprječavanja isparavanja. U mnogim laboratorijima je praksa pohranjivanja u hlađene uvjete kao i zatvaranje spremnika tek na kraju dnevnog rada tako da uzorci tijekom radnog procesa prije same pohrane mogu odstajati u uvjetima okolišne temperature i tijekom samog analitičkog procesa, a i još neko dodatno vrijeme prije prikladne pohrane. Takva praksa također može biti uzrokom varijabilnosti rezultata s obzirom na učinak okolišnih uvjeta, naročito temperature na uzorak. Optimalni uvjeti pohrane ovise zapravo o prirodi analita te je duljina vremena pohranjivanja bez promjene aktivnosti ili koncentracije različita za pojedine analite,(1) Uzorak za ABS je stabilan jako kratko vrijeme jer se mjere parcijalni tlakovi i pH krvi koji se stajanjem mijenjaju pa se zato ove pretrage moraju izraditi odmah nakon vađenja krvi. Uzorci urina stabilni su dva sata od uzorkovanja ukoliko se odrađuju kvalitativne analize dok stabilnost za kvantitativne analize ovisi o prirodi pojedinog analita koji se u urinu kvantitativno određuje. Stabilnost pojedinih biokemijskih analita u uzorku seruma je različita i dodatno ovisi o tome je li serum odvojen od ostatka stanica. Većina analita je stabilna na temperaturi od 4 °C i nakon 24 sata od vađenja krvi ukoliko je serum odvojen fizički od koaguliranih stanica i spremnik s uzorkom zatvoren kako bi se spriječilo isparavanje koje može utjecati na koncentracije mjerenih analita

Prilikom stajanja uzoraka za određivanje elektrolita očekivana je promjena koncentracije naročito prilikom korištenja spremnika bez separacijskog gela. Stajanjem se stanice raspadaju i njihov sadržaj izlazi i miješa se sa serumom što će u prvom redu povećati

koncentraciju kalija. Također s vremenom dolazi do ukoncentriravanja seruma zbog isparavanja, naročito ukoliko spremnici nisu zatvoreni. Učinak isparavanja na rezultate mjerenja pojedinih analita pogađa sve vrste uzoraka bez obzira na vrstu spremnika te je dodatno uvjetovano vremenom stajanja i uvjetima pohrane (zatvaranje spremnika i temperatura pohrane). Vrijeme u kojem se dogodi promjena koncentracije prilikom izlaganja uzorka okolišnim uvjetima tijekom trajanja same analitičke faze zajedno s vremenom do prikladne pohrane ne mora biti isto za pojedine elektrolite kao ni za pojedine vrste spremnika.

## 1.4 Spremnici za uzorkovanje krvi

Pravilno vađenje krvi i pravovremena obrada uzorka ključni su predanalitički koraci potrebni za vjerodostojnost laboratorijskih rezultata. Prikladan pribor za vađenje krvi također ima važnu ulogu u dobivanju točnog rezultata laboratorijske pretrage. U razdoblju između 1950. do 1990. godine uglavnom su se koristile otvorene staklene epruvete. Danas prevladavaju plastični zatvoreni sustavi za vađenje krvi jer umanjuju izlaganje biološki opasnom materijalu. Zatvoreni plastični spremnici toleriraju veću brzinu centrifugiranja i lakši su (7).

Unatoč sličnostima, spremnici različitih proizvođača variraju u odabiru materijala i aditiva koji se koriste u proizvodnji što potencijalno može utjecati na izvođenje samog testa i konačnog rezultata (4). Ovisno o vrsti tražene pretrage koristimo odgovarajuće spremnike. Razlikuju se vizualno po boji čepa ali i sastavu samog spremnika odnosno vrsti dodanih aditiva.

Spremnik sa ljubičastim čepom sadrži antikoagulans Kalij-EDTA te se koristi za vađenje pune krvi za hematološke pretrage. Spremnik sa sivim čepom sadrži antikoagulans kalcijev okslat ili neki drugi i inhibitor glikolize natrijev fluorid te služi uzimanju krvi za odvajanje plazme kod određivanje glukoze i laktata.

Spremnik sa crnim čepom sadrži Na-citrat kao antikoagulans te se koristi za uzimanje pune krvi za određivanje sedimentacije eritrocita. Spremnik s plavim čepom sadrži Na.-citrat kao antikoagulans te se koristi za odvajanje plazme za koagulacijske pretrage. Spremnike sa crvenim i žutim čepom koristimo za odvajanje seruma za biokemijske i imunokemijske pretrage. Spremnik označen sa žutom bojom čepa sadrži separacijski gel a spremnik s crvenim čepom nema separacijski gel. Spremnici za odvajanje seruma s ili bez separacijskog gela mogu sadržavati aktivator zgrušavanja što je označeno na samom spremniku.

| Vrsta uzorka | Antikoagulans | Boja čepa | Broj inverzija |
|---|---|---|---|
| **Plazma** (koagulacija) | Natrijev citrat (3,2%) |  | 3-4x |
| **Serum** (biokemija) | Aktivator zgrušavanja (silikon) |  | 5x |
| **Puna krv** (hematologija) | $K_3$EDTA |  | 8-10X |
| **Puna krv** (sedimentacija eritrocita) | Natrijev citrat (3,8%) |  | 8-10x |
| **Plazma** (glukoza) | Natrijev fluorid i kalijev oksalat |  | 8-10x |
| **Likvor** | Bez aditiva | Staklena epruveta | / |
| **Punktat-leukociti** | $K_3$EDTA |  | 8-10X |
| **Punktat-biokemija** | Bez aditiva | Staklena ili plastična epruveta | / |

*ako je potrebno izvaditi uzorak za hemokulturu,tada je on prvi u nizu

**Slika 1.** Vrste spremnika i redoslijed njihovog vađenja

**Izvor:* ***https://obs.hr/v4/odjeli/35-odjeli/50-laboratori***

### 1.4.1 Spremnici sa separacijskim gelom

Spremnici sa separacijskim gelom koriste se za odvajanje seruma od staničnih elemenata. Separacijski gelovi uglavnom su napravljeni od viskozne tekućine, punila i sredstva za zgušnjavanje. Unutarnja površina epruvete može sadržavati hidrofobni sloj koji osigurava prianjanje gela i čini ga neprobojnom barijerom koja sprječava miješanje staničnih komponenti sa serumom. Pozicioniranje gela nakon centrifugiranja ovisi o specifičnoj gravitaciji, viskozitetu, materijalu od kojeg je spremnik izrađen, temperaturi, brzini centrifugiranja, akceleraciji i de-akceleraciji, kao i o čimbenicima vezanim za samog pacijenta poput terapije heparinom, niskog hematokrita i dr.(7).




**Slika 2.** Spremnik sa separacijskom gelom

*Izvor: https://www.mediastorehouse.com/w/541/centrifuged-blood-uncentrifuged-blood-comparison-8002509.jpg*

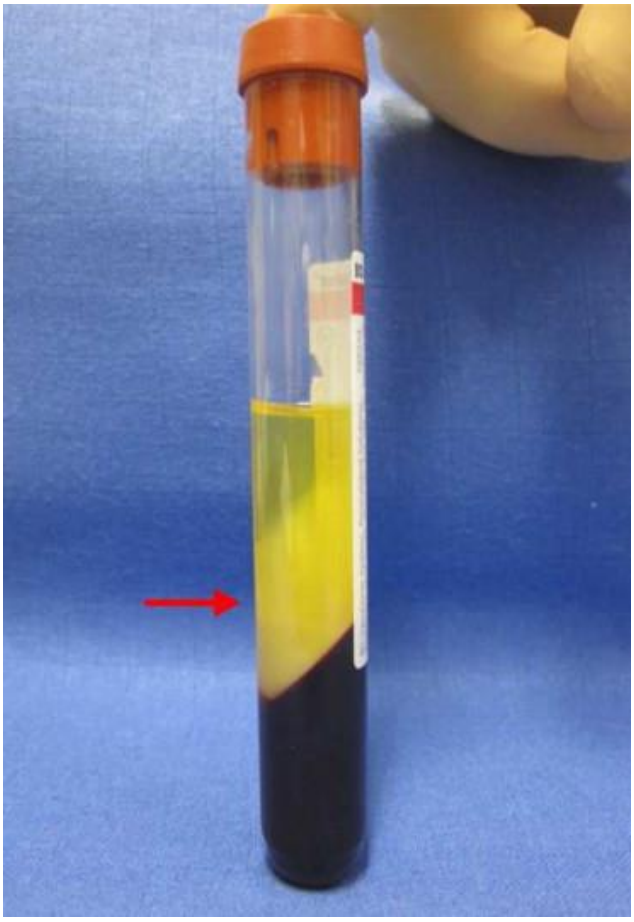
Ovi spremnici su jednostavni za korištenje, dobivaju se veće količine seruma, ograničavaju opasnu aerosolizaciju, zahtijevaju samo jedno centrifugiranje, te omogućuju korištenje direktno na analitičke sustave bez prethodnog prelijevanja seruma u drugi spremnik što skraćuje vrijeme pripreme seruma za mjerenje na automatskim analitičkim analizatorima. Separacijski gelovi mogu i otpuštati materijale od kojih su napravljeni kao što su komadići samog gela ili silikonska ulja i na taj način interferirati u mjerenjima pojedinih analita pojedinim metodama.

Provedeno je nekoliko studija o tome kako separacijski gel djeluje na koncentraciju pojedinih analita. Primjer su hidrofobni ljekovi kao šo su fenitoin, fenobarbitol, karbamazepin i lidokain koji se mogu apsorbirati unutar gela i dovesti do smanjenja koncentracije lijeka u serumu za 20% do 50% nakon 24 sata na + 4 $^0$C. Ima i drugih primjera. Korištenje spremnika sa separacijskim gelom za određivanje elektrolita može svakako doprinjeti u sprječavanju promjene koncentracije pojedinih elektrolita s obzirom na onemogućen kontakt seruma i stanica između kojih može doći do izmjene pojedinih elektrolita u oba smjera.

U idealnim uvjetima separacijski gel mora održavati jedinstvena kemijska i fizikalna svojstva unutar svog roka trajanja, te biti inertan prema uzorcima krvi u epruvetama. Optimizacija i standardizacija spremnika za krv ključna ja za dobivanje vjerodostojnih rezultata (4).

### 1.4.2 Spremnici bez separacijskog gela

Spremnici za odvajanje seruma bez separacijskog gela mogu biti impregnirani samo aktivatorom zgrušavanja ili su pak bez ikakvih aditiva. Mogu biti plastični ili stakleni. Uzorci krvi u ovakvom tipu spremnika također se mogu koristiti direktno nakon centrifugiranja. Međutim nije preporučljiva pohrana seruma u takvoj vrsti spremnika i očekivano bi bila skraćena u odnosu na pohranu fizički odvojenog seruma. Ukoliko je predviđena pohrana uzorka seruma zbog dodatnih provođenja pretraga poželjno je serum fizički odvojiti iz spremnika bez separacijskog gela kako bi se spriječio kontakt sa staničnim elementima i posljedična promjena koncentracije analita u serumu koji su prisutni i unutar stanica.



**Slika 3.** Spremnik bez separacijskog gelom

*Izvor: https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S1477513113002878-gr1.jpg*

# 2. CILJ RADA

Cilj ovog rada je ispitati mijenjaju li se koncentracije natrija, kalija i klorida s vremenom u uzorcima seruma odvojenim i analiziranim u spremnicima bez separacijskog gela kao i uzorcima seruma odvojenim i analiziranim u spremnicima sa separacijskim gelom u uvjetima laboratorijskog rada. Naime proces od odvajanja seruma centrifugiranjem do pohrane uzoraka u prikladne uvjete uključuje izlaganje uzorka okolišnim uvjetima koji mogu imati učinak na mjerene analite naročito ukoliko je serum u kontaktu s krvnim stanicama.

# 3. MATERIJALI I METODE

## 3.1 Uzorak

U istraživanju je korišteno četrdeset nasumično izabranih uzoraka seruma izvađenih u Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split, pri čemu je dvadeset uzoraka izvađeno u spremnike sa separacijskim gelom, a preostalih dvadeset u spremnike bez separacijskog gela. Nakon trideset minutnog procesa koagulacije na sobnoj temperaturi, spremnici su centrifugirani deset minuta na 3500 okretaja/min.

Prvo mjerenje koncentracije elektrolita natrija, kalija i klorida obavljeno je odmah nakon vađenja i obrade krvi dok su sljedeća dva mjerenja obavljena sa odmakom od po dva sata i to u okolišnim laboratorijskim uvjetima bez zatvaranja spremnika. Četvrto mjerenje obavljeno je nakon 24 sata pohrane na + 4°C u zatvorenom spremniku , dok je peto mjerenje elektrolita izvršeno nakon 48 sati pohrane na +4°C također u zatvorenom spremniku. Na takav način za svaki promatrani elektrolit prikupljeno je pet mjerenja; nulto mjerenje prvog dana u 09:00 sati, poslije 2 sata (11:00), 4 sata (13:00), 24 sata (sljedeći dan u 09:00), te poslije 48 sati (09:00 s vremenskim odmakom od 2 dana).

## 3.2 Metoda za određivanje koncentracije natrija, kalija i klorida u serumu

Koncentracije elektrolita natrija, kalija i klorida su mjerene na biokemijskom analizatoru AU680 tvrtke Beckman Coulter metodom indirektne potenciometrije sa ion selektivnim elektrodama za natrij, kalij i kloride.



**Slika 4.** Automatski analizator AU680

*Izvor: https://media.beckmancoulter.com/-/media/diagnostics/products/chemistry/au480/images/chem-au480-web.jpg?h=480&w=563&la=en&hash=2A45DEA22E2BEB534752093DEED09728EA0FD873*

## 3.3 Statistika

U empirijskom dijelu rada upotrebom biostatističkih metoda analizirani su prikupljeni podatci ovog istraživanja. Koriste se metode deskriptivne statistike i metode grafičkog prikazivanja. U svrhu odabira primjerenih statističkih testova, parametrijskih ili neparametrijskih, ispituje se normalnost distribucije za koncentracije elektrolita u pojedinim vremenskim točkama. Normalnost je testirana Kolmogorov-Smirnovljevim testom, te je utvrđeno kako vrijednosti odstupaju od normalne distribucije (p-vrijednost < 0,05) pa se shodno tome odabire prikladni neparametrijski test za zavisne uzorke; Wilcoxon Signed Rank test. Wilcoxon-ovim testom ispituje se razlikuju li se koncentracije svakog pojedinog elektrolita (natrija,kalija i klora) mjerene nakon 2h,4h, 24h i 48h od koncentracija izmjerenih neposredno nakon pravovremenog centrifugiranja krvi (0h). Svi statistički testovi izvršeni su primjenjujući razinu značajnosti od 5% ($p<0.05$), a koristeći statistički program SPSS (v22, IBM).

S obzirom na odstupanje podataka od normalne distribucije, vrijednosti pojedinih elektrolita grafički su prikazani Box-plot grafikonima. Takav prikaz sadrži sve relevantne informacije kao što su medijan, minimum, maksimum, kao i prvi i treći kvartil.

# 4. REZULTATI

U ovom dijelu rada iznose se rezultati testiranja promatranih elektrolita natrija, kalija i klora u serumu pacijenata nakon uzimanja krvi i pravovremenog odvajanja seruma, te za određene vremenske točke i odabrane spremnike. Usporedbom izmjerenih koncentracija promatranih parametara u određenim vremenskim točkama s koncentracijama parametara početnog mjerenja istražuje se kojim se parametrima koncentracije mijenjaju i u kojoj vremenskoj točki za svaki od korištenih spremnika za krv.

## 4.1. Natrij

Medijani s interkvartilnim rasponom za izmjerene koncentracije natrija u spremnicima bez separacijskog gela i sa separacijskim gelom za početno mjerenje, kao i za ponovljena mjerenja nakon 2, 4, 24 i 48 sati navedeni su u tablici 1 i tablici 2 respektivno. Osim deskriptivnih pokazatelja navedene su i vrijednost testne statistike, kao i p-vrijednost Wilcoxon Signed Rank testa kojim je testirano razlikuju li se koncentracije natrija u pojedinoj vremenskoj točci u odnosu na koncentracije početnog mjerenja. za obje vrste spremnika.

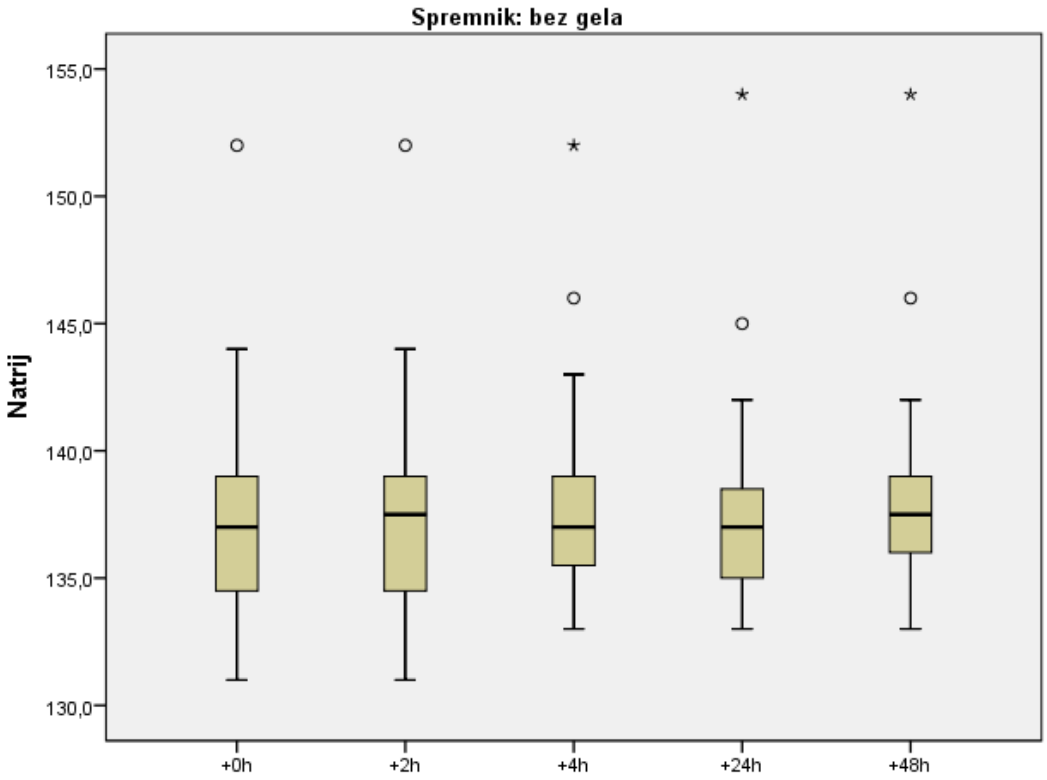
**Tablica 1**. Koncentracije natrija u spremnicima bez separacijskog gela u različitim vremenskim točkama.

| **Mjerenje** | **+0 h** | **+ 2 h** | **+ 4 h** | **+ 24 h** | **+ 48 h** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Veličina uzorka** | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| **Medijan** | 137,00 | 137,50 | 137,00 | 137,00 | 137,50 |
| **Interkvartilni raspon** | 134,25-139,00 | 134,25-139,00 | 135,25-139,00 | 135,00-138,75 | 136,00-139,00 |
| **Testna vrijednost** | | -0,58 | -2,28 | -1,44 | -2,68 |
| **p - vrijednost*** | | 0,564 | 0,023 | 0,149 | 0,007 |

*Wilcoxon Signed Rank Test usporedbe s početnim mjerenjem

Koncentracije natrija izmjerene u spremnicima bez gela izmjerene nakon dva sata nisu statistički značajno veće u usporedbi s početno izmjerenim koncentracijama (p-vrijednost =0,564). Koncentracije natrija izmjerene nakon četiri, i 48 sati značajno se razlikuju od prvog mjerenja (p-vrijednosti 0,023 i 0,007 respektivno), dok se mjerenje nakon 24 sata nije statistički značajno razlikovalo od početnog mjerenja (p-vrijednost=0,149) (Tablica 1).

Medijani i interkvartilni rasponi koncentracija natrija izmjerenih u spremnicima bez separacijskog gela u različitim vremenskim točkama prikazani su grafički na slici 5.




**Slika 5.** Box-plot dijagrami izmjerenih koncentracija natrija u spremnicima bez separacijskog gela u različitim vremenskim točkama.

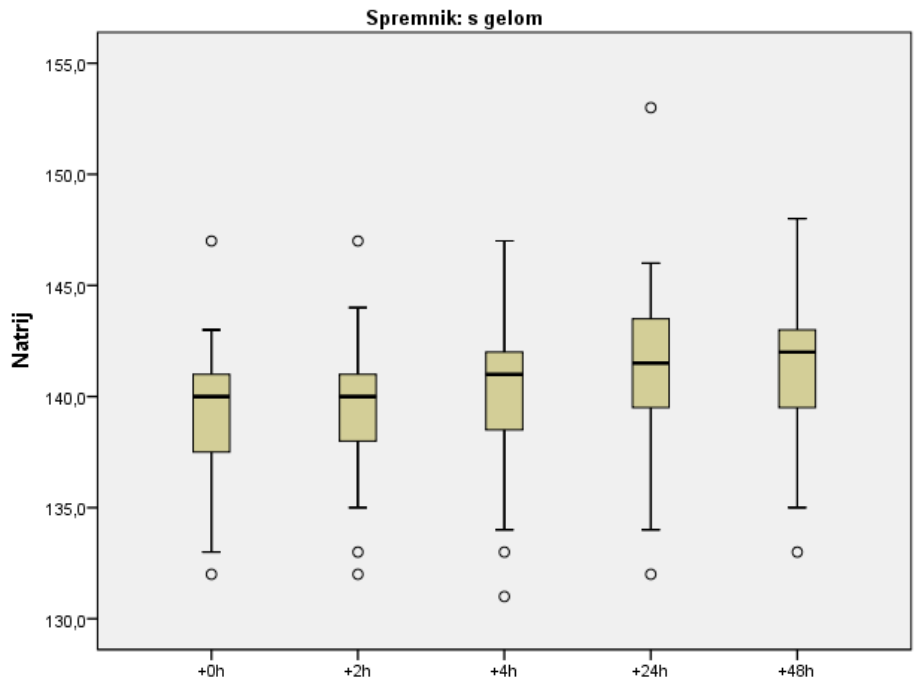
**Tablica 2**.Koncentracije natrija u spremnicima sa separacijskim gelom u različitim vremenskim točkama

| **Mjerenje** | **+0 h** | **+ 2 h** | **+ 4 h** | **+ 24 h** | **+ 48 h** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Veličina uzorka** | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| **Medijan** | 140,00 | 140,00 | 141,00 | 141,50 | 142,00 |
| **Interkvartilni raspon** | 137,25-141,00 | 137,50-141,00 | 138,25-142,00 | 139,25-143,75 | 139,25-143,00 |
| **Testna vrijednost** | | -2,12 | -2,68 | -3,29 | -3,90 |
| **p-vrijednost*** | | 0,034 | 0,007 | 0,001 | <0,001 |

*Wilcoxon Signed Rank Test usporedbe s početnim mjerenjem

Koncentracije natrija izmjerene u spremnicima s gelom nakon dva sata značajno su veće u usporedbi s početno izmjerenim vrijednostima (p-vrijednost =0,034). kao i koncentracije natrija u spremniku s gelom izmjerene nakon četiri, 24 i 48 sati (p-vrijednosti 0,007, 0,001, <0,001 respektivno) (Tablica 2).

Koncentracije natrija izmjerene u spremnicima s gelom promijenile su se u odnosu na početno izmjerene u svim vremenskim točkama mjerenja. Medijani i interkvartilni rasponi koncentracija natrija izmjerenih u spremnicima sa separacijskim gelom u različitim vremenskim točkama prikazani su grafički na slici 6.




**Slika 6.** Box-plot dijagrami izmjerenih koncentracija natrija u spremnicima sa separacijskim gelom u različitim vremenskim točkama.

## 4.2 Kalij

Medijani s interkvartilnim rasponom za izmjerene koncentracije kalija u spremnicima bez separacijskog gela i sa separacijskim gelom za početno mjerenje, kao i za ponovljena mjerenja nakon 2, 4, 24 i 48 sati navedene su u tablici 3 i tablici 4 respektivno. Osim deskriptivnih pokazatelja navedene su i vrijednosti testne statistike, kao i p-vrijednost Wilcoxon Signed Rank kojim je testirano razlikuju li se koncentracije kalija izmjerene u različitim vremenskim točkama od početne koncentracije za obje vrste spremnika.

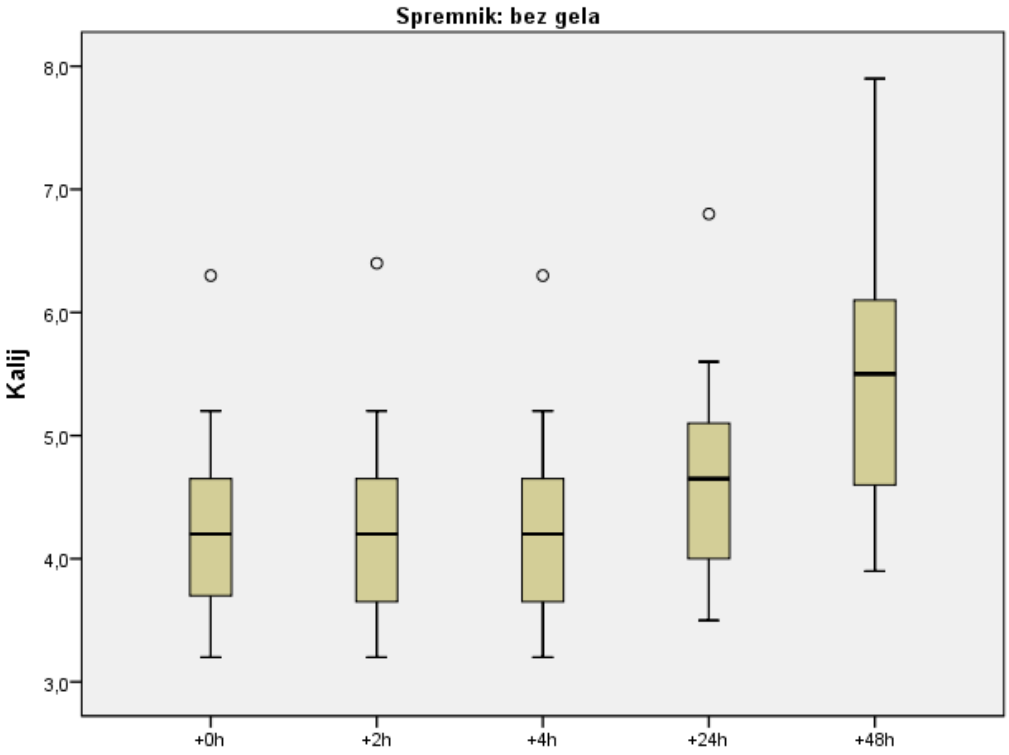
**Tablica 3**. Koncentracije kalija u spremnicima bez separacijskog gela u različitim vremenskim točkama

| **Mjerenje** | **Početno mjerenje** | **+ 2 h** | **+ 4 h** | **+ 24 h** | **+ 48 h** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Veličina uzorka** | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| **Medijan** | 4,20 | 4,20 | 4,20 | 4,65 | 5,50 |
| **Interkvartilni raspon** | 3,70-4,68 | 3,63-4,68 | 3,63-4,68 | 4,00-5,10 | 4,55-6,20 |
| **Testna vrijednost** | | -1,34 | -1,67 | -3,93 | -3,92 |
| **p-vrijednost*** | | 0,180 | 0,096 | <0,001 | <0,001 |

*Wilcoxon Signed Rank Test usporedbe s početnim mjerenjem

Koncentracije kalija u spremnicima bez separacijskog gela izmjerene nakon dva sata statistički se ne razlikuju od koncentracija izmjerenih početnim mjerenjem (p-vrijednost =0,180) kao ni koncentracije izmjerene nakon četiri sata (p-vrijednost =0,096). Koncentracije kalija izmjerene nakon 24, i 48 sati su statistički značajno veće u odnosu na prvo mjerenje (p-vrijednosti <0,001). (Tablica 3).

Medijani, minimumi, maksimumi, prvog i trećeg kvartila te interkvartilni raspon i koncentracija kalija izmjerenih u spremnicima bez separacijskog gela u različitim vremenskim točkama prikazani su i grafički na slici 7.



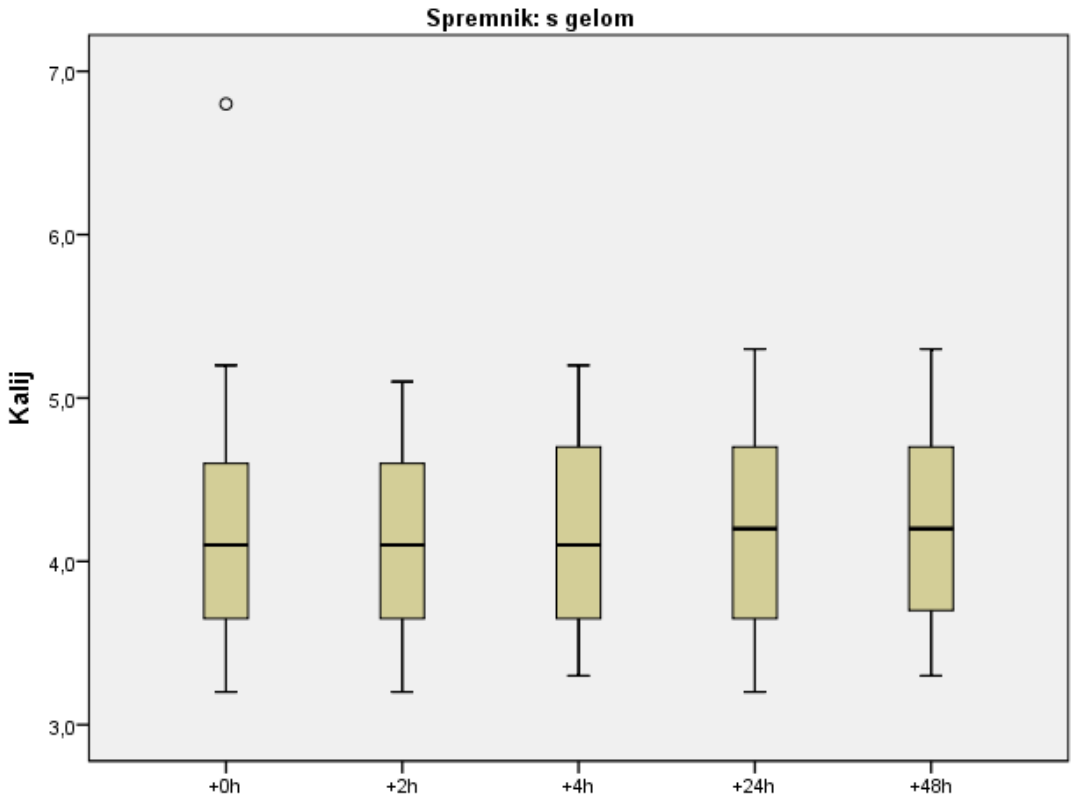

**Slika 7.** Box-plot dijagrami izmjerenih koncentracija kalija u spremnicima bez separacijskog gela u različitim vremenskim točkama.

**Tablica 4**. Koncentracije kalija u spremnicima sa separacijskim gelom u različitim vremenskim točkama.

| **Mjerenje** | **+0 h** | **+ 2 h** | **+ 4 h** | **+ 24 h** | **+ 48 h** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Veličina uzorka** | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| **Medijan** | 4,10 | 4,10 | 4,10 | 4,20 | 4,20 |
| **Interkvartilni raspon** | 3,63-4,60 | 3,63-4,60 | 3,63-4,70 | 3,63-4,70 | 3,65-4,70 |
| **Testna vrijednost** | | -1,13 | -1,27 | -1,54 | -3,16 |
| **p-vrijednost*** | | 0,257 | 0,206 | 0,124 | 0,002 |

*Wilcoxon Signed Rank Test usporedbe s početnim mjerenjem

Koncentracije kalija u spremnicima sa separacijskim gelom izmjerene nakon dva sata statistički se značajno ne razlikuju od početnih koncentracija (P-vrijednost =0,257) kao ni koncentracije izmjerene nakon četiri sata i 24 sata (P-vrijednosti 0,206, 0,124). Jedina statistički značajna razlika je ona između početnog mjerenja i mjerenja nakon 48 sati (p-vrijednost 0,002) (Tablica 4). Medijani i interkvartilni rasponi koncentracija kalija izmjereni u spremnicima sa separacijskim gelom prikazani su i grafički na slici 8.




**Slika 8.** Box-plot dijagrami izmjerenih koncentracija kalija u spremnicima s gelom u različitim vremenskim točkama.

## 4.3 Klor

Medijani s interkvartilnim rasponom za izmjerene koncentracije klora u spremnicima bez separacijskog gela i sa separacijskim gelom za početno mjerenje, kao i za ponovljena mjerenja nakon 2, 4, 24 i 48 sati navedeni su u tablici 5 i tablici 6 respektivno. Osim deskriptivnih pokazatelja navedene se i vrijednost testne statistike, kao i p-vrijednost Wilcoxon Signed Rank testa kojim je testirani razlikuju li se koncentracije klora izmjerene u različitim vremenskim točkama s početnim koncentracijama za obje vrste spremnika.

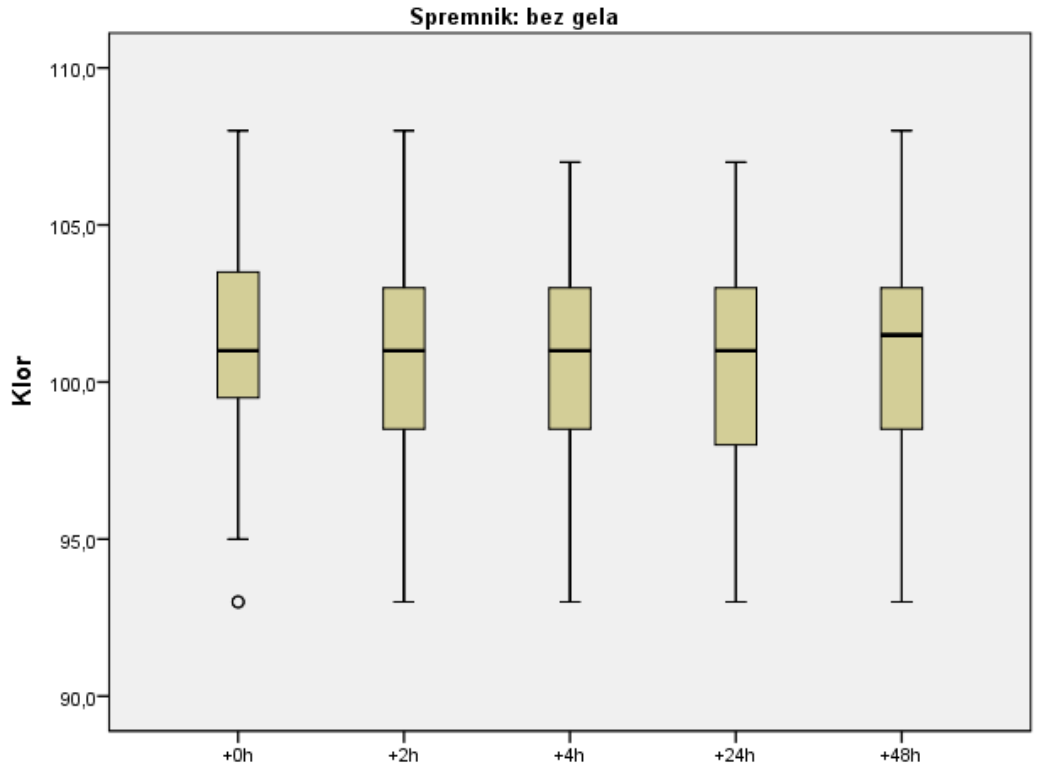
**Tablica 5**. Koncentracije klora u spremnicima bez separacijskog gela u različitim vremenskim točkama.

| **Mjerenje** | **+0 h** | **+ 2 h** | **+ 4 h** | **+ 24 h** | **+ 48 h** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Veličina uzorka** | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| **Medijan** | 101,00 | 101,00 | 101,00 | 101,00 | 101,50 |
| **Interkvartilni raspon** | 96,75-103,75 | 98,25-103,50 | 98,25-103,00 | 97,50-103,00 | 98,25-103,50 |
| **Testna vrijednost** | | -1,98 | -0,28 | -0,61 | -0,49 |
| **p-vrijednost*** | | 0,059 | 0,782 | 0,544 | 0,627 |

*Wilcoxon Signed Rank Test usporedbe s početnim mjerenjem

Koncentracije klora u spremnicima bez separacijskog gela izmjerene nakon dva, četiri , 24 i 48 sati statistički se ne razlikuju u usporedbi s početno izmjerenim vrijednostima (p-vrijednosti 0,059, 0,782, 0,544, 0,627). (Tablica 5).

Medijani i interkvartilni rasponi koncentracija klora izmjereni u spremnicima bez separacijskog gela u različitim vremenskim točkama prikazani su grafički na slici 9




**Slika 9.** Box-plot dijagrami izmjerenih koncentracija klora u spremnicima bez gela u različitim vremenskim točkama

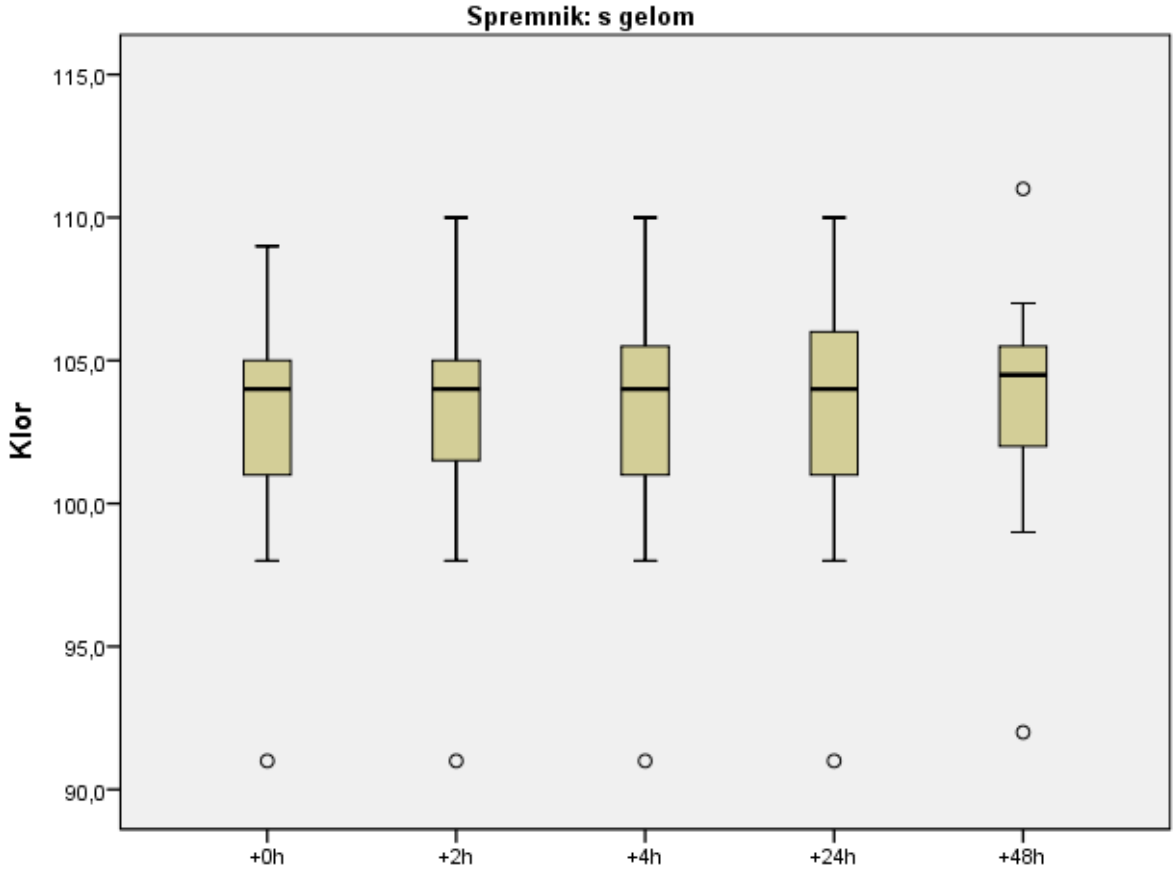
**Tablica 6**. Usporedba koncentracije klora u spremnicima sa gelom u različitim vremenskim točkama s početnom koncentracijom.

| **Mjerenje** | +0 h | + 2 h | + 4 h | + 24 h | + 48 h |
|---|---|---|---|---|---|
| **Veličina uzorka** | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| **Medijan** | 104,00 | 104,00 | 104,00 | 103,50 | 104,50 |
| **Interkvartilni raspon** | 101,00-105,00 | 101,25-105,00 | 101,00-105,75 | 100,25-105,75 | 102,00-105,75 |
| **Testna vrijednost** | | -1,27 | -3,05 | -2,07 | -3,82 |
| **p-vrijednost*** | | 0,206 | 0,002 | 0,039 | <0,001 |

*Wilcoxon Signed Rank Test usporedbe s početnim mjerenjem

Koncentracije klora u spremnicima sa separacijskim gelom izmjerene nakon dva sata statistički se ne razlikuju od početno izmjerenih vrijednosti (p-vrijednost =0,206). Ostale koncentracije klora izmjerene nakon 4, 24 i 48 sati se statistički značajno razlikuju u odnosu na prvo mjerenje (p-vrijednosti <0,002, p< 0,039, p<0,001 respektivno) (Tablica 6).

Medijani i interkvartilni rasponi koncentracija klora izmjereni u spremnicima sa separacijskim gela u različitim vremenskim točkama prikazani su grafički na slici 10.




**Slika 10.** Box-plot dijagrami izmjerenih koncentracija klora u spremnicima sa separacijskim gelom u različitim vremenskim točkama.

# 5. RASPRAVA

Postoji puno čimbenika u cjelokupnom laboratorijskom procesu koji mogu utjecati na laboratorijski nalaz a većini je izvor predanalitička faza laboratorijskog procesa. Ključan uvjet za ostvarivanje točnog i pouzdanog nalaza je kvalitetan uzorak (6). Kvaliteta uzorka za analize u kliničkom laboratoriju ovisi također o jako puno čimbenika i onih predanalitičkih koji direktno uvjetuju kvalitetu dobivenog uzorka kao i onih analitičkih i postanalitičkih kojima kvaliteta dobivenog uzorka može biti kompromitirana. Uzrokom varijabilnosti laboratorijskih rezultata mnogih biokemijskih testova pa tako i određivanja elektrolita u serumu može biti i sam odabir spremnika za uzimanje krvi kao i uvjeti pohrane koji se naročito odnose na okolišnu temperaturu i trajanje pohrane (6). Postoji više vrsta spremnika za uzimanje krvi predviđene odvajanju seruma za biokemijska testiranja ali je ključna razlika među spremnicima u postojanju separacijskog gela koji služi sprječavanju kontakta seruma i koagulirane krvi nakon obrade centrifugiranjem po završetku koagulacijskog procesa. U laboratorijskoj praksi se koriste i spremnici s i bez separacijskog gela. Uvjeti pohrane uzoraka mogu također varirati u laboratorijskoj praksi s obzirom na temperaturu ali i vrijeme koje protječe do zatvaranja spremnika i pohrane u uvjete hlađenja (10). U mnogim laboratorijima je praksa pohrane uzoraka u uvjete hlađenja i zatvaranja spremnika na kraju rutinskog rada što znači da otvoreni uzorci mogu i višesatno biti izloženi okolišnoj temperaturi koja također može varirati. Takva praksa bi očekivano mogla imati učinka na koncentracije elektrolita u uzorcima pogotovo u slučajevima kad se pretraga elektrolita zatraži s vremenskom odgodom što nije rijetkost u kliničkim laboratorijima za ležeće pacijente.

Ovim istraživanjem ispitivalo se mijenjaju li se koncentracije elektrolita u serumu s obzirom na vrijeme stajanja uzorka i uvjete pohrane u spremnicima s i bez separacijskog gela. Koncentracije elektrolita mjerene su u pet vremenskih točaka u spremnicima sa separacijskim gelom i bez separacijskog gela kako bi se usporedbom koncentracija početnog mjerenja obavljenog pravovremeno nakon obrade krvi s koncentracijama preostala četiri mjerenja (nakon 2h,4h,24h i 48h) uvidjelo dolazi li do statistički značajne promjene u koncentraciji elektrolita natrija, kalija i klorida stajanjem uzoraka u okolišnim uvjetima (2h i 4h) i uvjetima pohrane (24h i 48h) za pojedine vrste spremnika.

Dobiveni rezultati pokazali su kako prilikom određivanja koncentracije natrija u spremnicima bez separacijskog gela kao i u spremnicima sa separacijskim gelom postoje statistički značajne razlike u koncentracijama između početnog mjerenja i preostala četiri mjerenja ($p < 0.05$). Koncentracije natrija mjerene u spremnicima sa separacijskim gelom u svim vremenskim točkama su malo porasle u odnosu na početno mjerenje što bi se moglo objasniti isparavanjem kojem su izloženi uzorci dok su otvoreni na sobnoj temperaturi (mjerenje nakon 2h i 4h). Međutim efekt isparavanje se ne može isključiti potpuno ni prilikom pohrane zatvorenih uzoraka u hlađene uvjete jer su otvarani i izlagani okolišnim uvjetima prilikom ponavljanja mjerenja. Nadalje porastu koncentracije može pridonijeti smanjivanje volumena seruma ponavljanjem mjerenja pri čemu je onda učinak isparavanja na mjerene koncentracije veći.

Koncentracije natrija u spremnicima bez separacijskog gela nakon 2h i24h nisu statistički značajno različite od koncentracija početnog mjerenja ($p > 0.05$) dok koncentracije nakon 4h i 48h jesu ($p < 0.05$), pokazuju blagi porast. Radi se o uzorcima u kojima je serum u trajnom kontaktu sa krvnim ugruškom što omogućava ulazak iona natrija u stanice ugruška pogotovo uzimajući u obzir zatajivanje Na/K ATPaze koja bi natrij trebala izbacivati iz stanica.(10) Vjerojatno objašnjenje ovakvom rezultatu za koncentracije u spremnicima bez separacijskog gela je udružen učinak više faktora, i isparavanja koje povećava koncentraciju kao i smanjivanje volumena ponovljenim mjerenjima, i kontakt seruma sa stanicama iz ugruška koje bi moglo pridonijeti smanjivanju koncentracije. No svakako bi ovakvo opažanje trebalo dodatno istražiti s većim brojem uzoraka i mjerenja u različitim vremenskim točkama.

Koncentracije izmjerenog kalija u spremnicima sa separacijskim gelom nisu pokazale statistički značajnu razliku između početnog mjerenja i mjerenja nakon 2,4 i 24h ($p > 0.05$). Statistički se značajno razlikuju samo koncentracije izmjerene nakon 48h ($p < 0.05$) koje pokazuju blagi porast. Blagi porast tek nakon 48h bi se također mogao protumačiti efektom isparavanja čiji se učinak pokazao tek u zadnjoj točci mjerenja, a čemu je moglo pridonijeti i smanjivanje volumena ponovljenim mjerenjima. Međutim opažanje nije konzistentno s promjenom koncentracije natrija u istim spremnicima. Stoga bi i u ovom slučaju ispitivanje trebalo napraviti s većim brojem uzoraka i mjerenja kako bi se provjerilo ovakvo opažanje.

Koncentracije kalija u spremnicima bez separacijskog gela statistički su se značajno promijenile u odnosu na početne nakon 24 i 48h i to pokazujući opet blagi porast ($p < 0.05$). Za ovakvo opažanje bi se moglo reći da nije sasvim očekivano. Porast koncentracije kalija bi se

očekivao u ranijim vremenskim točkama i zbog učinka isparavanja koje bi u otvorenim spremnicima tijekom 4h trebalo biti značajnije i zbog zatajivanja Na/K ATP aze koja bi kalij trebala ubacivati u stanice krvnog ugruška s kojima je serum u ovoj vrsti spremnika u kontaktu. Tako da ovakvo opažanje također iziskuje provjeru sa većim brojem uzoraka i mjerenja.

Uspoređivanjem koncentracije klorida u spremnicima bez separacijskog gela mjerenih nakon 2, 4, 24 i 48 sati nakon početnog mjerenja sa koncentracijama početnog mjerenja, nije dobivena statistički značajna razlika ($p > 0.05$). Ovakvo opažanje nije sukladno opaženim promjenama koncentracija natrija i kalija u istoj vrsti spremnika ali bi moglo biti protumačeno ulaskom kloridnih iona u stanice ugruška s kojim je serum u kontaktu čime bi se poništio mogući učinak isparavanja na mjerenu koncentraciju klorida. Za razliku od opažanja u spremnicima bez separacijskog gela, koncentracije klorida u spremnicima sa separacijskim gelom su se promijenila u odnosu na početno izmjerene koncentracije nakon 4,24 i 48h ($p < 0.05$) dok se koncentracije izmjerene nakon 2h ne razlikuju od početnih ($p > 0.05$). I u ovom slučaju radi se o blagom porastu koncentracija u odnosu na početne kakva je opažena i za natrij u svim vremenski točkama i za kalij nakon 48h što se opet može protumačiti učinkom isparavanja kojem pridonosi i smanjivanje volumena ponovljenim mjerenjima.

Ovom malom studijom se ispitivalo samo mijenjaju li se koncentracije pojedinih elektrolita u laboratorijskim uvjetima rada koji podrazumijevaju stajanje otvorenih uzoraka u okolišnim uvjetima (varijabilan sobna temperatura) i pohranu zatvorenih uzoraka u uvjete hlađenja tek završetkom dnevnog rada. Studija ima brojna ograničenja koja se prvenstveno odnose na malen broj uzoraka odnosno mjerenja i ne testira analitički koeficijent varijacije koji također ima učinak na varijabilnost izmjerenih koncentracija.

Stoga bi opažene rezultate svakako trebalo ispitati opsežnijom studijom koja bi mogla obuhvatiti i ispitivanje stabilnosti elektrolita u pojedinoj vrsti spremnika kako bi se dobili precizniji podatci prema kojima bi bilo moguće korigirati uvriježene laboratorijske postupke s uzorcima nakon provedenih pravovremenih analiza u slučaju potrebe za provođenjem naknadnih.

# 6. ZAKLJUČAK

- Koncentracije natrija u spremnicima sa separacijskim gelom promijenile su se u odnosu na početnu u svim vremenskim točkama pokazujući blagi porast.
- Koncentracije natrija u spremnicima bez separacijskog gela pokazuju blagi porast nakon 4 i 48h od početnog mjerenja u odnosu na početno izmjerenu koncentraciju dok su koncentracije izmjerene 2 i 24h nakon početnog mjerenja nepromijenjene u odnosu na početnu.
- Koncentracija kalija u spremnicima sa separacijskim gelom pokazuje blagi porast u odnosu na početno izmjerenu koncentraciju nakon 48h dok su koncentracije nakon 2,4 i 24h nepromijenjene u odnosu na početnu
- Koncentracija kalija u spremnicima bez separacijskog gela nepromijenjena je u odnosu na početnu nakon 2 i 4 h a blagi porast pokazuje nakon 24 i 48h
- Koncentracija klorida u spremnicima sa separcijskim gelom nepromijenjena je u odnosu na početnu koncentraciju nakon 2h dok koncentracije nakon 4,24 i 48h pokazuju blagi porast u odnosu na početnu
- Koncentracije klorida u spremnicima bez separacijskog gela ne pokazuju promjenu koncentracjie u odnosu na početnu u svim točkama mjerenja.

# 7. LITERATURA


**1.** Čepelak I, Božidar Štraus B. U: Čvorišćec D, Čepelak I, ur. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb: Medicinska naklada; 2009.

**2.** Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu (prema CLSI smjernicama H3-A6 2010, WHO ili Svjetske zdravstvene organizacije), Zagreb, ožujak 2014 (01-2014/v.1)

**3.** Synlab; Predanalitika; izvadci iz akademske dokumentacije

**4.** Hadi SM. Gel Blood Collection Tube Affecting Test Results. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2016;3(4):40-5.

**5.** Bowen RA, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. Biochemia medica: Biochemia medica. 2014 Feb 15;24(1):31-44.

**6.** Kocijancic M, Cargonja J, Delic-Knezevic A. Evaluation of the BD Vacutainer® RST blood collection tube for routine chemistry analytes: clinical significance of differences and stability study. Biochemia medica: Biochemia medica. 2014 Oct 15;24(3): 368-75.

**7.** Bowen RA, Hortin GL, Csako G, Otañez OH, Remaley AT. Impact of blood collection devices on clinical chemistry assays. Clinical biochemistry. 2010 Jan 1; 43(1-2): 4-25.

**8.** Koseoglu M, Hur A, Atay A, Cuhadar S. Effects of hemolysis interference on routine biochemistry parameters. Biochemia medica: Biochemia medica. 2011 Feb 15;21(1):79-85.

**9.** Krleža JL. Laboratory medicine: Preanalytical errors, interferences and interpretation of laboratory test results. InTajne i nedoumice u pedijatriji 2014 Jan 1. Medicinski fakultet Osijek, Studio HS internet doo Osijek.

**10.** Balbas LAB, Amaro MS, Rioja RG, Martin MJA, Soto AB. Stability of plasma electrolytes in Barricor and PST II tubes under different storage conditions. Biocheia Medica. 2017;27(1):225-30

# 8. SAŽETAK

Uzroci varijabilnosti laboratorijskih rezultata pa tako i rezultata određivanja koncentracije elektrolita u serumu mogu biti brojni ali većini je izvor predanalitička faza laboratorijskog procesa. Ovim istraživanjem ispitivalo se mijenjaju li se koncentracije elektrolita u serumu s obzirom na vrijeme stajanja uzorka i uvjete pohrane u spremnicima s i bez separacijskog gela.

U istraživanju je korišteno 40 uzoraka krvi izvađenih u Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split. Dvadeset uzoraka izvađeno je u spremnike bez separacijskog gela a ostalih dvadeset u spremnike sa separacijskim gelom. Uzorci su centrifugirani nakon procesa koagulacije i svim uzorcima su izmjerene koncentracije elektrolita natrija, kalija i klorida metodom indirektne potenciometrije sa ion selektivnim elektrodama za natrij, kalij i kloride. Sljedeća mjerenja obavljena su nakon dva i četiri sata pohrane na sobnoj temperaturi. Ostala mjerenja rađena su nakon 24 i 48 sati pohrane na +4 ˚C. Uspoređeni su rezultati početnog mjerenja sa rezultatima ostalih mjerenja za svaki elektrolit u spremnicima bez separacijskog gela i za svaki elektrolit u spremnicima sa separacijskim gelom.

Cilj istraživanja bio je ispitati mijenjaju li se se koncentracije elektrolita s vremenom i promjenom uvjeta pohrane u spremnicima s i bez separacijskog gela.

Koncentracije natrija u spremnicima sa separacijskim gelom promijenile su se u odnosu na početnu u svim vremenskim točkama pokazujući blagi porast. Koncentracije natrija u spremnicima bez separacijskog gela pokazuju blagi porast nakon 4 i 48h od početnog mjerenja u odnosu na početno izmjerenu koncentraciju dok su koncentracije izmjerene 2 i 24h nakon početnog mjerenja nepromijenjene u odnosu na početnu.

Koncentracija kalija u spremnicima sa separacijskim gelom pokazuje blagi porast u odnosu na početno izmjerenu koncentraciju nakon 48h dok su koncentracije nakon 2,4 i24h nepromijenjene u odnosu na početnu.

Koncentracija kalija u spremnicima bez separacijskog gela nepromijenjena je u odnosu na početnu nakon 2 i 4 h a blagi porast pokazuje nakon 24 i 48h.

Koncentracija klorida u spremnicima sa separacijskim gelom nepromijenjena je u odnosu na početnu koncentraciju nakon 2h dok koncentracije nakon 4,24 i 48h pokazuju blagi porast u odnosu na početnu.
Koncentracije klorida u spremnicima bez separacijskog gela ne pokazuju promjenu koncentracije u svim točkama mjerenja u odnosu na početnu.

Ovom malom studijom se ispitivalo samo mijenjaju li se koncentracije pojedinih elektrolita u laboratorijskim uvjetima rada koji podrazumijevaju stajanje otvorenih uzoraka u okolišnim uvjetima (varijabilan sobna temperatura) i pohranu zatvorenih uzoraka u uvjete hlađenja tek završetkom dnevnog rada. Studija ima brojna ograničenja koja se prvenstveno odnose na malen broj uzoraka odnosno mjerenja i ne testira analitički koeficijent varijacije koji također može imati učinak na varijabilnost izmjerenih koncentracija.
Stoga bi opažene rezultate svakako trebalo ispitati opsežnijom studijom koja bi moguće obuhvatila i ispitivanje stabilnosti elektrolita u pojedinoj vrsti spremnika kako bi se dobili precizniji podatci prema kojima bi bilo moguće korigirati uvriježene laboratorijske postupke s uzorkom nakon provedenih pravovremenih analiza u slučaju potrebe za provođenjem naknadnih.

# 9. ABSTRACT

The causes of variable laboratory results as well as the variable electrolyte's serum concentration may be numerous but the most are preanalytical. This research investigated whether the serum electrolyte's concentrations change with time and different storage conditions in tubes with and without the separation gel.

In this study it was used 40 blood samples taken in the clinical laboratory of University Hospital Center Split . Twenty samples were taken in the tubes without separation gel and the remaining twenty in a tubes with separation gel. The samples were centrifuged after coagulation process and the concentrations of electrolytes sodium, potassium and chloride were measured in all samples immediately using indirect potentiometry with ion selective electrodes for sodium, potassium and chlorides. The subsequent measurements were performed after two and four hours in samples stored at room temperature. The following two measurements are made after 24 and 48 hours of storage at + 4 ˚ C. The results of all four delayed measurements were compared with the results of initial measurments in order to observe if there is a change in concentration.

The aim of the study was to observe whether the electrolyte concentrations change with a time delay and different storage conditions in tubes with and without the separation gel.

The concentrations of sodium in the tubes with separation gel have changed in relation to the initial measurments in all time points, showing a slight increase. The concentrations of sodium in the tubes without separation gel show a slight increase after 4 and 48 hours after the initial measurement in relation to the measured initial concentration, while the concentration measured 2h and 24 h after the initial measurement were unaffected.

The concentration of potassium after 48h in the tubes with separation gel shows a slight increase in relation to the initial concentration while the concentrations after the 2,4 and 24h were unchanged in relation to the initial.

The concentrations of potassium measured 2 and 4 hours after initial measurment in the tubes without separation gel were unchanged compared to the initial while the results measured after 24 and 48 hours show a slight increase. The concentration of chloride measured 2 hours after initial measurment in the tubes with separation gel was unchanged in relation to the initial concentration, while the concentrations measured after 4,24 and48 h show a slight increase in relation to the initial.

Concentrations of chloride in the tubes without the separation gel were unchanged compared to initial in all time points.

This small study examined if there is a change of electrolyte's concentrations measured in laboratory conditions which relates to the open samples in environmental conditions (variable room temperature) and the storage of closed samples in cooling conditions at the end of daily work. The study has a number of limitations that are primarily related to the small number of samples and measurements The coeficients of analytical variation were not tested despite the fact that analitical variation could affect the measured results.

Therefore, the observed results should certainly be examined by the the extended study which would examine the stability of electrolyte in a particular type of sampling tubes in order to get more precise data which would help to correct the common laboratory procedures.

# ŽIVOTOPIS

## OSOBNI PODATCI

| | |
|---|---|
| Ime i prezime | Marijana Bašić |
| Adresa | Bobani 12, Prugovo, 21231 Klis |
| Država | Hrvatska |
| E-mail adresa | mbasiczanze@gmail.com |
| Mjesto i datum rođenja | Split, 23.01.1977 |

## OBRAZOVANJE

| | |
|---|---|
| Vrijeme (od - do) | 1991. – 1995. |
| Institucija | Zdravstvena škola Split |
| Smjer | Zdravstveno laboratorijski tehničar |
| | |
| Vrijeme (od – do) | 2015. – 2019. |
| Institucija | Sveučilišno odjel zdravstvenih studija |
| | Preddiplomski sveučilišni studij |
| | Medicinsko laboratorijska dijagnostika |

## RADNO ISKUSTVO

| | |
|---|---|
| Vrijeme (od – do) | svibanj 1998- svibanj 1999 |
| Poslodavac | KBC-Split -pripravnički staž |
| | |
| Vrijeme (od –do) | lipanj 2000- rujan 2008 |
| Poslodavac | Optika Anda –Split |
| Radno mjesto | Trgovac optičkim pomagalima |
| | |
| Vrijeme (od – do) | rujan 2008 - siječanj 2018 |
| Poslodavac | Poliklinika Obad |
| Radno mjesto | Zdravstveno laboratorijski tehničar |

| | |
|---|---|
| Vrijeme (od – do) | 01.12.2018- |
| Poslodavac | Poliklinika Analiza |
| Radno mjesto | Zdravstveno laboratorijski tehničar |

## DODATNA ZNANJA

| | |
|---|---|
| Strani jezik | engleski (aktivno) |
| Računalne vještine | Rad u Microsoft office paketu (Word, Excel, Power Point), rad u Bionet programu, rad u Medicus programu |
| Ostale sposobnosti | Odgovornost<br>Timski rad i kolegijalnost<br>Prilagodba novim sredinama |