

Vakumlu Jelli Tüplerde Dondurma İşleminin Rutin Biyokimyasal Analizler Üzerine Etkisi

[Effects of Freezing on Routine Biochemical Analyses in Evacuated Gel Separator Tubes]

Mehmet Eryılmaz,
Derya Sönmez,
Doğan Yücel

SB. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bölümü Ankara 06340, TÜRKİYE

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Doğan Yücel

S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bölümü
Ulucanlar Caddesi, Cebeci, Ankara 06340
Tel: 312-5953212
Fax: 312-362 18 57
E-posta: doyuucel@yahoo.com

Kayıt Tarihi : 10 Mart 2010 ; Kabul Tarihi : 11 Haziran 2010
[Date Registered : 10 March 2010 ; Date Accepted : 11 June 2010]

ÖZET

Amaç: Sağladığı birçok avantaj ve kullanım kolaylığı nedeniyle sağlık kuruluşlarının çoğunda venöz kan örneği toplanmasında vakumlu jelli tüpler kullanılmaktadır. Bu çalışmada vakumlu jelli tüpleri dondurmanın rutin biyokimyasal analizlere etkisinin olup olmadığı araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Onbir sağlıklı kişiden vakumlu jelli tüplere (Vacuette, Greiner ve Vacutainer, Becton-Dickinson) ikişer örnek alındı; 30 dk. bekledikten sonra 1300 g'de 10 dk santrifüj edildi. Birinci seride birincil tüplerde rutin biyokimyasal ve immüno-kimyasal analizler yapıldı (Grup 1); aynı tüplerden bir miktar serum porsiyone edilerek -20 °C'de 48 saat tutuldu (Grup 2); ikinci seride birincil tüpler doğrudan doğruya -20 °C'de 48 saat donduruldu (Grup 3). Doğrudan dondurulan birincil tüplerdeki örnekler ile dondurulan ikincil tüplerdeki örnekler +4 °C'de çözüldü ve eş zamanlı olarak aynı analizler yapıldı.

Bulgular: Biyokimyasal analizde toplam 24 analitin başlangıç değerlerine göre dondurulan tüplerdeki yüzde değişimleri göz önüne alındığında Greiner tüplerde 3 analit (ürik asit, ALT ve doymamış demir bağlama kapasitesi), Vacutainer tüplerde 5 analit (ürik asit, total bilirubin, HDL kolesterol, ALT, doymamış demir bağlama kapasitesi) için fark %10'dan büyüktü. İmmünokimyasal analizde ise, sadece Vacutainer tüplerde TSH'da >%10 fark bulundu.

Sonuçlar: Kan örneklerinin vakumlu ve jel separatörlü Vacutainer ve Greiner tüplerde santrifügasyon sonrasında -20 °C'de dondurularak bekletilmesi, rutin biyokimyasal ve immünokimyasal analizlerde önemli fark yaratmamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Vakumlu kan alma tüpü, Örnek depolanması, Örnek işlenmesi, Dondurma işlemi

ABSTRACT

Aim: Because of advantages and practicability, evacuated gel separator tubes have been used in health care institutes for a long time. In this study we investigated the effects of freezing of evacuated gel separator tubes on routine chemical and immunochemical analyses.

Materials and Methods: Blood samples were drawn into two series of tubes for each commercial evacuated gel separator tubes (Vacuette, Greiner and Vacutainer, Becton-Dickinson); after clotting for 30 min at room temperature all the tubes were centrifuged at 1300g for 10 min. Routine biochemical and immunochemical analyses were performed with primary tubes in first serie tubes (Group 1); aliquotes of these sera were stored at -20 °C for 48 hours (Group 2); after centrifugation, the other serial primary tubes were freezed directly at -20 °C for 48 hours (Group 3). Freezed primary and secondary samples were thawed at +4°C and same analyses were performed simultaneously.

Results: As the percentage changes of freezed tubes were compared to the initial value of 24 analytes; three analytes in Greiner tubes (uric acid, ALT, and unsaturated iron binding capacity) and five analytes in Vacutainer tubes (uric acid, total bilirubin, HDL cholesterol, ALT and unsaturated iron binding capacity) had a change more than 10%. For immunochemical analyses, only TSH had a change more than %10 in Vacutainer tubes.

Conclusions: Storing of freezed blood samples after centrifugation in the evacuated gel separator Greiner and Vacutainer tubes at -20 °C, does not cause significant difference in the results of routine chemical and immunochemical analytes.

Key Words: Evacuated blood collection tubes, Sample storage, Sample processing, Freezing

Giriş ve Amaç

Vakumlu jelli tüplerin kullanımına yaklaşık olarak 25 yıl önce başlanmıştır ve bugün birçok klinik laboratuvarıda yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha az hemolize neden olması, daha kaliteli serum elde edilmesi, daha kısa sürede santrifüj etme imkanı, santrifüj işlemi sonrası kanın hücresel elemanlarıyla serum arasında fiziki bir bariyer oluşması sonucu serumu başka bir tüpe ayırmaya gerek olmadan aynı tüp ile otoanalizörden çalışma ve aynı tüpte örneği saklama imkanı sağlaması gibi avantajları nedeniyle geniş kabul görmektedir (1).

Jelli tüplerde, jel ile analit arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma yapılmıştır. Serum örnekleri vakumlu jelli tüplerde uzun süre bekletildiğinde jel bariyerle temas sonucu bazı analitlerin stabilitesi azalabilir (2). Genellikle rutin biyokimyasal analizlerinde bir fark görülmemekle birlikte, özellikle ilaç düzeylerinde jelli tüplerde önemli derecede düşüş olduğu birçok makalede rapor edilmiştir (1,2). İş yükü az olan bazı laboratuvarlarda, istemi seyrek yapılan testler için alınan örnekler, genellikle -20 °C'de dondurularak saklanmakta ve toplu halde çalışılmaktadır. Bu durumda, örneklerin jelli tüplerde dondurularak saklanması uygun olup olmadığı sorusu doğmaktadır. Bu noktadan yola çıkarak, çalışmamızda yaygın kullanılan jel separatörlü tüplere alınan kan örnekleri santrifüjasyon sonrasında -20 °C'de dondurulduğunda, rutin biyokimyasal ve immünokimyasal analizlerin etkilenip etkilenmediğini araştırdık. Literatürde benzer bir çalışma yer almamaktadır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda 16x100 mm'lik Vacuette tüpler (Greiner) ile 16x100 mm'lik Vacutainer SST tüpler (Beckton Dickinson) kullanıldı,

Onbir sağlıklı katılımcının her birinden Greiner ve Vacutainer marka vakumlu jelli tüplere, iki seri için, ikişer tüp kan alındı. Tüpler oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 1300 g'de 10 dk santrifüj edildi. Birinci seri birincil tüplerde, eş zamanlı olarak, iki saat içinde tamamlanacak şekilde şu analizler yapıldı (Grup 1): Glukoz, üre, kreatinin, ürik asit (UA), total protein (TP), albümin, total bilirubin (TB), HDL kolesterol, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfat (ALP), gama glutamil transpeptidaz (GGT), kreatin kinaz (CK), kreatin kinaz MB izoenzimi (CKMB), laktat dehidrogenaz (LDH), fosfat, kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), amilaz, demir (Fe), doymamış demir bağlama kapasitesi (UIBC), sodyum (Na), potasyum (K), klorür (Cl) Olympus AU 2700 analizöründe fotometrik olarak; tiroid stimulan hormon (TSH), serbest triiodotironin (sT3), serbest tiroksin (sT4), folat, ferritin ve vitamin B12 Advia Centaur XP analizöründe kemiluminesan teknikle çalışıldı. Bu serideki birincil tüplerden bir miktar serum ayrılarak katkı maddesi içermeyen plastik tüplere ayrıldı ve bu örnekler -20 °C'de donduruldu (Grup 2). İkinci seri birincil tüpler (Grup 3), santrifüjasyon sonrasında eş zamanlı olarak -20 °C'de

donduruldu, 48 saat bu sıcaklıkta tutuldu. Bu süre sonunda tüpler (Grup 2 ve Grup 3) +4 °C'de bekletilerek çözüldü. Çözündükten sonra, buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığına gelmeleri beklendi ve daha sonra Grup 2 tüplerle birlikte, eş zamanlı olarak yukarıda belirtilen analizler yapıldı. Tüm analitler çift çalışıldı. Dondurma işlemi öncesinde gözle görülür hemoliz olup olmadığı kontrol edildi. Dondurma işlemi sonrasında ise serum örneklerinde spektrofotometrik olarak serbest hemoglobin ölçümü yapıldı.

İstatistiksel Analiz. Değerlendirmede çift çalışmaların ortalaması esas alındı. Her analit için, gruplar birbiriyle karşılaştırıldı ve yüzde değişimleri hesaplandı. Karşılaştırma yapılırken taze örnekte yapılan çalışmada elde edilen değerler (Grup 1) esas alındı. Elde edilen yüzde değişim değeri her analit için laboratuvar içi kalite kontrol çalışmalarından hesaplanan günler arası varyasyon değerleri (n = 30) ile kıyaslandı. Ayrıca, her analitin bireysel biyolojik varyasyon değerlerine göre belirlenen hedef impresiyon değerleri saptanarak, bu değerler ile de karşılaştırma yapıldı. İmpresiyon için hedef değer olarak biyolojik varyasyon değerinin yarısı (CVa <0.5 CVi) kabul edildi (3). Ek olarak, gruplar arasındaki fark Friedman testiyle değerlendirildi. Friedman testine göre anlamlı fark bulunan analitlere Wilcoxon testi uygulandı.

Sonuçlar

Jelli Tüplerde Dondurma İşleminin Etkisi. Çalışmada Grup 1 ve Grup 3 karşılaştırması, jelli tüplerde dondurma işleminin etkisini yansıtmaktadır (Tablo 1). Greiner marka tüpler biyolojik varyasyona dayalı hedef değer (<0.5 CVi) ile kıyaslandığında glukoz, üre, ürik asit, total protein, albümin, HDL kolesterol, ALT, ALP, LDH, Ca, Mg, amilaz, Na, K, Cl için elde edilen yüzde değişim değerleri impresiyon için belirlenen hedef değerlerden yüksekti. Bu gruplar laboratuvar içi günler arası varyasyon değerleri ile kıyaslandığında ek olarak AST, GGT, CKMB, Fe, UIBC'de de farkın günler arası değişkenliğinin üzerinde olduğu görüldü. Buna karşılık, istatistiksel olarak glukoz, ürik asit, total protein, albümin, total bilirubin, HDL kolesterol, ALT, ALP, Ca, amilaz, UIBC, Na ve Cl'de anlamlı fark bulundu (p<0.05). Greiner marka tüplerde immünokimyasal olarak ölçülen analitler incelendiğinde sadece TSH'da görülen fark günler arası varyasyon değerinden yüksekti (Tablo 1). Hedef CVa esas alındığında çalışılan immünokimyasal analitlerin hiçbirisinde anlamlı değişiklik görülmedi. İstatistiksel analiz esas alındığında ise sadece serbest T4'te anlamlı düşüklük saptandı.

Vacuotainer marka tüpler bu üç kritere göre değerlendirildiğinde etkilenen analitlerin benzer olduğu görüldü. Biyolojik varyasyon değerleri ile kıyaslandığında glukoz, kreatinin, ürik asit, total protein, albümin, total bilirubin, HDL Kolesterol, ALT, ALP, CK, fosfat, Mg, amilaz, Na'da değişim impresiyon için belirlenen hedef değerlerden yüksek bulundu. Günler arası varyasyon değerleri

Tablo 1. Greiner ve Vacutainer Tüpler İçin Grup 1 ve Grup 3'ün Karşılaştırılması.

	GREINER %*	VACUTAINER %*	CVi/2	% CV (n=30)
Glukoz	6.9 **	5.9	2.9	2.7
Üre	-6.7	1.1	6.2	4.7
Kreatinin	0.7	6**	2.7	3.2
Ürik Asit	14.6**	10.5**	4.5	2.1
Total Protein	8.8 **	9	1.4	1.5
Albümin	8.8**	7.1**	1.6	2.1
Total Bilirubin	9.7**	13.4**	11.9	2.0
HDL Kolesterol	9.04**	12.6**	3.6	2.2
AST	6	6	6.0	2.8
ALT	14.1**	15.9**	11.2	3.0
ALP	9**	7	3.2	5.8
GGT	4	6	6.9	2.3
CK	1	9	11.4	2.2
CKMB	6.4	8.8	9.9	5.4
LDH	9	2.7	4.3	4.8
Fosfat	3	9.8**	4.3	3.8
Ca	6 **	0.6	1.0	1.8
Mg	8.9	6.8	1.8	2.2
Amilaz	6.8**	5.7	4.4	1.6
Fe	5.3	9.8**	13.3	4.3
UIBC	11.2 **	10.4 **		10.2
Na	5.1 **	3.2**	0.4	2.3
K	2.17	1.04	2.4	4.6
Cl	3**	1	0.6	2.3
TSH	8	12**	9.7	6.5
Serbest T3	0.2	-2	4.0	4.5
Serbest T4	5.7**	5.7**	2.9	7.7
Folat	0.8	5.2	12.0	6.0
Vitamin B12	5.4	8.7**		6.0
Ferritin	4.7	5.1	7.1	7.8

* Dondurulan jelli tüplerde (Grup 3), dondurma işlemi uygulanmadan çalışılan birincil tüplere (Grup 1) göre değişim.

** Wilcoxon testine göre (p<0.05).

% CV: Laboratuvar iç kalite kontrol sonuçlarına göre günler arası varyasyon

CVi: Bireysel biyolojik varyasyon değeri

ile kıyaslandığında ise ek olarak AST, GGT, CKMB, Fe, UIBC'de etkilenme olduğu görüldü. Vacutainer tüplerde istatistiksel olarak kreatinin, ürik asit, albümin, total bilirubin, HDL kolesterol, ALT, fosfat, demir, UIBC ve Na'da anlamlı fark bulundu (p<0.05). İmmünokimyasal olarak ölçülen analitler biyolojik varyasyona dayanan hedef imprecizyon değerleri ile kıyaslandığında sadece TSH'da fark hedef değerden yüksek bulundu. Günler arası varyasyon değerleri göz önüne alındığında ise TSH ve Vitamin B12'de yükseklik saptandı. Ancak, istatistiksel olarak Vacutainer tüplerde immünokimyasal olarak ölçülen analitlerden sadece TSH, serbest T4 ve vitamin B12'de anlamlı düşüklük saptandı (p<0.05).

Dondurma İşleminin Etkisi. Çalışmada Grup 1 ve Grup 2 karşılaştırması sadece örneklere uygulanan dondurma işleminin etkisini yansıtmaktadır. Greiner marka tüp-

lerde bu gruplar biyolojik varyasyona dayanan hedef değerler ile kıyaslandığında TP, albümin, HDL kolesterol, ALT, ALP, Mg, amilaz, Cl için yüzde değişim değerleri belirlenen hedef değerlerden yüksek bulundu. Kıyaslama günler arası varyasyon değerleri ile yapıldığında, ek olarak ürik asit, total bilirubin, AST ve CKMB'de elde edilen fark günler arası varyasyon değerlerinden yüksekti. İstatistiksel analizde ise ürik asit, total protein, albümin, total bilirubin, AST, ALT, ALP, Ca, amilaz, UIBC'de anlamlı fark bulundu (p<0.05). İmmünokimyasal analitlerden sadece serbest T4 ve ferritinde fark imprecizyon için belirlenen hedef değerlerden yüksek bulundu. Günler arası varyasyon esas alındığında hiçbir analitte etkilenme görülmedi. İstatistiksel analiz esas alındığında ise serbest T3, serbest T4, vitamin B12 ve ferritinde anlamlı fark görüldü (Tablo 2).

Tablo 2. Greiner ve Vacutainer Tüpler İçin Grup 1 ve Grup 2'nin Karşılaştırılması.

	GREINER (%)*	VACUTAINER (%)*	CVi/2	% CV (n=30)
Glukoz	-0.7	-1**	2.9	3.8
Üre	-3.4	-5.3**	6.2	4.7
Kreatinin	-2.9	-4.8	2.7	4.0
Ürik Asit	2.6**	1.9**	4.5	2.1
Total Protein	-3.2**	-2.4	1.4	1.5
Albümin	-2.8**	-4.6	1.6	2.1
Total Bilirubin	11.4**	9.8**	11.9	2.0
HDL Kolesterol	-4.3**	-3.8	3.6	2.2
AST	-5**	-6**	6.0	2.8
ALT	16**	9.3**	11.2	3.0
ALP	-4**	-5**	3.2	5.8
GGT	-1	-6	6.9	2.3
CK	1	4**	11.4	2.2
CKMB	9.3	1.7**	9.9	5.4
LDH	-1.75	0.8	4.3	4.8
Fosfat	-2.2	-1.9	4.3	3.8
Ca	-2.7**	-7.2**	1.0	1.8
Mg	2	1	1.8	2.2
Amilaz	-4.5**	-3.7	4.4	1.6
Fe	1.3	3	13.3	4.3
UIBC	5.4**	4.7**		10.2
Na	-0.9**	6.2	0.4	2.3
K	-0.6	-4.2**	2.4	4.6
Cl	-1.6	-3.7**	0.6	2.3
TSH	-2.6	-1.5	9.7	6.5
Serbest T3	-6.5**	-5**	4.0	4.5
Serbest T4	6.5**	-3.7	2.9	7.7
Folat	-5	-5.1	12.0	6.0
Vitamin B12	-4.8**	-4**		6.0
Ferritin	-8.5**	-4.5	7.1	7.8

* Dondurulan katkı maddesi içermeyen ikincil düz tüplerin (Grup 2), dondurma işlemi uygulanmadan çalışılan birincil tüplere (Grup 1) göre değişimi.

** Wilcoxon testine göre (p<0.05).

% CV: Laboratuvar iç kalite kontrol sonuçlarına göre günler arası varyasyon

CVi: Bireysel biyolojik varyasyon değeri

Vacutainer marka tüpler biyolojik varyasyona dayanan hedef değerler ile kıyaslandığında Albümin, HDL Kolesterol, ALP, Ca, Na, K, Cl'de fark belirlenen hedef değerden yüksekti. Günler arası varyasyon değerleri ile yapılan kıyaslamada ek olarak, üre, kreatinin, total protein, total bilirubin, AST, ALT, GGT, CK ve amilazda etkilenme olduğu görüldü. İstatistiksel olarak glukoz, üre, ürik asit, total bilirubin, AST, ALT, ALP, CK, CK-MB, Ca, UIBC, K ve Cl için anlamlı fark bulundu. İmmünokimyasal analizlerde ise sadece serbest T4 için yüzde değişim değerleri imprecizyon için belirlenen hedef değerden yüksekti. Buna karşılık, günler arası varyasyon değerleri esas alındığında hiçbir analitte etkilenme görülmedi. İstatistiksel analiz esas alındığında ise sadece serbest T3 ve vitamin B12'de anlamlı yükseklik saptandı (p <0.05; Tablo 2).

Jel Üzerinde Dondurarak Bekletmenin Etkisi. Çalışmada Grup 2 ve Grup 3 karşılaştırması örneği jelde dondurarak bekletmenin etkisini yansıtmaktadır. Greiner marka tüplerde, bu gruplar biyolojik varyasyona dayanan hedef imprecizyon değerleri ile kıyaslandığında glukoz, ürik asit, total protein, albümin, HDL kolesterol, AST, ALP, LDH, fosfat, Ca, Mg, amilaz, Na, Cl için yüzde değişim değerleri belirlenen hedef değerlerden yüksekti. Günler arası varyasyon değerleri ile kıyaslandığında ise ek olarak GGT, Fe, UIBC ve K'da elde edilen fark günler arası varyasyon değerlerinden yüksekti. İstatistiksel analizde ürik asit, total protein, albümin, total bilirubin, HDL kolesterol, AST, ALP, LDH, Ca, amilaz, UIBC, Na ve Cl'de anlamlı fark bulundu (p<0.05). İmmünokimyasal analizlerden sadece serbest T3, serbest T4, ferritinde fark imprecizyon için belirlenen hedef de-

ğerlerden yüksekti. Günler arası varyasyon değerleri göz önüne alındığında ek olarak TSH ve Vitamin B12'de yükseklik saptandı. İstatistiksel analizde TSH, serbest T3, serbest T4, vitamin B12 ve ferritinde anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Grup 2 ve Grup 3 karşılaştırmasında, Vacutainer marka tüpler biyolojik varyasyon değerleri ile kıyaslandığında glukoz, üre, kreatinin, ürik asit, total protein, albümin, HDL kolesterol, AST, ALP, GGT, CKMB, fosfat, Ca, Mg, amilaz, Fe, Na, K, Cl için yüzde değişim değerleri belirlenen hedef değerlerden yüksek bulundu. Günler arası varyasyon değerleri ile kıyaslandığında ek olarak total bilirubin ve ALT'da elde edilen fark günler arası varyasyon değerlerinden yüksekti. İstatistiksel ana-

lizde glukoz, üre, kreatinin, ürik asit, total protein, albumin, HDL kolesterol, AST, ALP, CK, fosfat, demir, UIBC, K'da anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). İmmüno-kimyasal analizlerden TSH ve folat için fark imprecizyon için belirlenen hedef değerlerin dışındaydı (Tablo 3). Günler arası varyasyon değerleri göz önüne alındığında, ek olarak Vitamin B12'de de değişkenlik yüksekti. İstatistiksel analizde immünokimyasal olarak ölçülen analizlerden TSH, serbest T4 ve vitamin B12'de anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Tartışma

Çalışmada yaygın olarak kullanılmakta olan vakumlu jelli tüplere alınan kan örneklerinin santrifügasyon son-

Tablo 3. Greiner ve Vacutainer Tüpler İçin Grup 2 ve Grup 3'ün Karşılaştırılması.

	GREINER (%) [*]	VACUTAINER (%) [*]	CVi/2	% CV (n=30)
Glukoz	8.3	7.3**	2.9	3.8
Üre	-0.3	6.8**	6.2	4.7
Kreatinin	1.9	10.8**	2.7	4.0
Ürik Asit	14.5**	8.8**	4.5	2.1
Total Protein	9.7**	9.8**	1.4	1.5
Albümin	8.7**	9.2**	1.6	2.1
Total Bilirubin	1.1**	4.9	11.9	2.0
HDL Kolesterol	15.6**	18.2**	3.6	2.2
AST	11.7**	11.1**	6.0	2.8
ALT	-0.6	3.5	11.2	3.0
ALP	14.8**	13.0**	3.2	5.8
GGT	4.9	10.1	6.9	2.3
CK	0.7	2.2**	11.4	2.2
CKMB	-5.1	-10.6	9.9	5.4
LDH	11.7**	1.7	4.3	4.8
Fosfat	6.7	13.3**	4.3	3.8
Ca	9.3**	8.8	1.0	1.8
Mg	8.3	6.1	1.8	2.2
Amilaz	12.3**	9.6	4.4	1.6
Fe	4.5	13.3**	13.3	4.3
UIBC	10.4**	10**		10.2
Na	6.3**	-3.0	0.4	2.3
K	2.8	5.1**	2.4	4.6
Cl	4.8**	-4	0.6	2.3
TSH	8.5**	13.4**	9.7	6.5
Serbest T3	6.4**	3	4.0	4.5
Serbest T4	12.8**	10.1**	2.9	7.7
Folat	5.6	13.3	12.0	6.0
Vitamin B12	11.5**	11.5**		6.0
Ferritin	10.9**	3.9	7.1	7.8

* Dondurulan jelli tüplerin (Grup 3), dondurulan katkı maddesi içermeyen ikincil düz tüplere (Grup 2) göre değişimi.

** Wilcoxon testine göre ($p<0.05$).

% CV: Laboratuvar iç kalite kontrol sonuçlarına göre günler arası varyasyon

CVi: Bireysel biyolojik varyasyon değeri

Tablo 4. Dondurma İşlemi Sonrasında Serbest Hemoglobin Düzeyleri.

Örnek No	Hemoglobin Konsantrasyonu (mg/dL)*	
	Greiner	Vacutainer
1	14.1	5.0
2	8.1	5.6
3	12.2	6.5
4	19.6	5.7
5	12.6	13.4
6	16.2	18.6
7	5.8	6.8
8	11.4	9.6
9	18.8	16.7
10	19.8	9.7
11	4.2	12.1

*Tüm örneklerde de serbest hemoglobin düzeyi görünür hemoliz düzeyinin (20 mg/dL) altındadır.

rasında dondurulmasının sık çalışılan biyokimyasal ve immünokimyasal testlere etkisi araştırıldı. Bütün grup karşılaştırmaları göz önüne alındığında en fazla fark Grup 1 ile Grup 3 ve Grup 2 ile Grup 3 arasında görüldü. Bu grup karşılaştırmalarında fark bulunan analizlerin benzer olması, farkın jel üzerinde dondurarak bekletmeden kaynaklandığını düşündürmektedir. Buna karşılık, tüm grup karşılaştırmalarında total protein, albümin, HDL kolesterol, ALP ve AST'de fark bulunması, bu analizlerdeki etkilenmenin jelin etkisinden çok, bütün grup kıyaslamalarında ortak olan dondurma işlemine bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Öte yandan, ölçülen serbest hemoglobin düzeyleri, örnekleri dondurarak 48 saat jelli tüplerde bekletmenin belirgin hemolize neden olmadığını göstermektedir (Tablo 4). Hemolizli serumlarda LDH, K, CKMB ve AST testlerinde görülmesi beklenen artışın görülmemesi de bulgularımızı doğrular niteliktedir. Dolayısıyla, jel üzerinde dondurarak bekletmek çalışmada kullanılan tüplerde belirgin bir hemolize yol açmamaktadır.

Vakumlu jelli tüplerle yapılan çalışmalar incelendiğinde özellikle immünokimyasal analizlerle ilgili yayınlarda uyumsuz sonuçlar olduğu görülmektedir (1,2). Yapılan bir çalışmada vakumlu jelli tüp ve vakumlu düz tüplere alınan örnekler +4°C'de 24, 48 ve 72 saat bekletilmiş, jelli örneklerde serbest T3 düzeyi yüksek bulunmuştur. Bu artışa neden olabilecek mekanizma olarak, jelin serbest T3 benzeri aktivite gösterebileceği, kemiluminesan reaksiyon koşullarında indikatör reaksiyonu interfere edebileceği belirtilmiştir (1). Banfi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada jelli ve jelsiz olmak üzere iki farklı Vacutainer tüpte örnekler 72 saat +4 °C'de bekletilmiş, örneklerde tirotropin, serbest ve total T3, T4 çalışılmış ve tüpler arasında fark bulunmamıştır (2).

Örnek toplanmasında separatör jel içeren tüpler kullanıldığında tüp duvar materyalleri, surfaktanlar, separatör jeller ve pıhtı aktivatörleri immünokimyasal tekniklerle yapılan ölçümleri interfere edebilir (4). Özellikle örnek

bu tüplerde uzun süre bekletilirse etki daha belirgin olabilir. Mathew ve ark.'nın çalışmasında (5) örnekler jelli ve jelsiz tüplerde iki grup halinde -80 °C'de 12 ay bekletilmiştir. AST, Cl, kreatinin, Fe ve TP'de istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmasına rağmen, klinik açıdan anlamlı fark bulunmamıştır (5). Mathew ve ark.'nın çalışması, bizim çalışmamızdaki Grup 2 ve Grup 3 karşılaştırmasına benzerlik göstermektedir. Ancak, bu çalışmada birincil taze örneklerde ölçüm yapılmamıştır. Bizim çalışmamızın Mathew ve ark.'nın çalışmasından farkı, örneklerdeki daha yüksek sıcaklıktaki (-20 °C), daha kısa süreli etkilenmeyi gösteriyor olmasıdır. Ayrıca, çalışmamızın Mathew ve ark.'nın çalışmasından ve diğer yayınlardan en önemli farkı, hem iki farklı jelli tüp markasında dondurma işleminin etkisinin paralel olarak incelemesi, hem de etkilenmenin hiç etkilenme olmadığı varsayılabilecek birincil tüpler referans alınarak değerlendirilmesidir.

Çalışmada kullanılan Vacutainer tüplerin Greiner tüplerden farkı, Vacutainer tüplerde eritrositlerin tüp duvarına tutunmasını engellemek amacıyla silikon kullanılmasıdır (6). Daha önce yapılan çalışmalarda silikon kaplı serum separator tüplerin iyonize magnezyum (7-10) ve lityum (11) gibi iyon spesifik elektrotlarla yapılan ölçümlerde pozitif yönde interferansa sebep olduğu gösterilmiştir. Ancak, çalışmamızda Greiner ve Vacutainer marka tüpler karşılaştırıldığında etkilenen analizler benzerdir (Tablo1-Tablo3). Dolayısıyla, serumun jel üzerinde dondurarak bekletilmesi, bu iki farklı ticari ürün arasında belirgin bir fark göstermemiştir.

Sonuç olarak, her iki ticari üründe de (Greiner ve Vacutainer) birincil tüplerin santrifügasyon sonrasında dondurulmasına bağlı belirgin bir hemoliz artışı olmaktadır. Dondurulan tüplerde pek çok analiz için fark laboratuvar iç kalite kontrol sonuçlarından elde edilen impresizyon sınırlarını veya biyolojik varyasyona dayanan hedef impresizyon sınırlarını geçse ve istatistiksel olarak anlamlı olsa da, genel kabul gören yaklaşıma

göre, eğer %10'dan küçük ise, farkın önemsiz olduğu öne sürülmektedir (12). Bu sonuçlara göre, vakumlu jelli tüplere alınan kan örnekleri, santrifüjasyon sonrasında serumu başka tüpe aktarmaksızın birincil tüpler ile -20 °C'de 48 saate kadar bekletilebilir.

Kaynaklar

- [1] Kılınç A.Ş, Düzoylum A, Kılınç F, Yücel D. (2003) Comparison of serum separator tubes (SST) with plain evacuated tubes for some tumor markers and hormones. Turk J Bioch 28: 264-7.
- [2] Banfi G, Pontillo M. (1996) Stability of thyroid test in serum obtained from plain tubes and tubes containing gel separator (Vacutainer®). Clin Lab 42:757-59.
- [3] Donald SY, Edward WB. (2006) Preanalytical variables and biological variation. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics (Derleyenler: Carl AB, Edward RA, David ED.) 4. Edition, s. 449-471, Elsevier Saunders.
- [4] Bowen RA, Vu C, Remaley AT, Hortin GL, Csako G. (2007) Differential effect of blood collection tubes on total free fatty acids (FFA) and total triiodothyronine (TT3) concentration: a model for studying interference from tube constituents. Clin Chim Acta 378:181-93.
- [5] Mathew G, Zwart S.R, Smith S.M. (2009) Stability of blood analytes after storage in BD SST™ tubes for 12 mo. Clin Biochem 42:1732-4.
- [6] Becton DickinsonTM. Vacutainer TM blood collection tubes. http://www.bd.com/vacutainer/products/venous/ordering_info_tubes.asp (accessed May and June 2004).
- [7] Marsoner HJ, Spichiger UE, Ritter C, Sachs C, Ghahramani M, Offenbacher H. (1994) Measurement of ionized magnesium with neutral carrier based ISE's. Progress and results with the AVL 988-4 magnesium analyzer. Scand J Clin Lab Invest 54:45-51.
- [8] Zoppi F, De Gasperi A, Guagnellini E, Marocchi A, Mineo E, Pazzucconi F. (1996) Measurement of ionized magnesium with AVL 988/4 electrolyte analyzer: preliminary analytical and results. Scand J Clin Lab Invest Suppl 224:259-74.
- [9] Ritter C, Ghahramani M, Marsoner HJ. (1996) More on the measurement of ionized magnesium in whole blood. Scand J Clin Lab Invest Suppl 224:275-80.
- [10] Cao Z, Tongate C, Elin RJ. (2001) Evaluation of AVL 988/4 analyzer for measurement of ionized magnesium and ionized calcium. Scand J Clin Lab Invest 61:389-94.
- [11] Sampson M, Ruddel M, Albright S, Elin RJ. (1997) Positive interference in lithium determinations from clot activator in collection container. Clin Chem 43:675-9.
- [12] Clinical and Laboratory Standards Institute. (2005) Interference testing in clinical chemistry; approved guideline – second ed., CLSI Document EP7-A2 [ISBN 1-56238-584-4].