

# Trombinli Hızlı Pıhtılaştırıcı Jelli Tüplerin Kullanımı

## Utilization of Rapid Separator Tubes (RST) Containing Thrombin

Aram Aslan Gökçe Aktaş Ömer Emecen Hale Aral Murat Usta  
Berrin Berçik İnal Pınar Tonbaklar Bilgi Güvenç Güvenen

Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarı, İstanbul

### ÖZET

**Amaç:** Acil serviste, kısa sürede pıhtılaşmayı sağlayan trombin içeren (RST) ve daha önceden kullanmakta olduğumuz pıhtı aktivatörlü jelli tüplerden (SST II Advance) elde edilen serum örneklerinde test sonuçlarını karşılaştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Hastalardan aynı zamanda iki farklı tüpe (RST ve SST II Advance) kan alındı. Üreticinin önerdiği şekilde RST tüpler 5-6 kez alt-üst edilip 5 dakika bekletilerek, SST II Advance tüpler ise 5-6 kez alt-üst edilip 30 dakika bekletilerek santrifüj edildi (1600xg'de 10 dakika). 48 hastanın serum örneklerinde, glukoz, üre, amilaz, kalsiyum, sodyum, potasyum düzeyleri ikişer kez çalışıldı.

**Bulgular:** Kolmogrov Smirnov testi ile grup dağılımı normal olan üre, kalsiyum ve potasyum sonuçları için paired sample t testi uygulandı (sırasıyla  $p=0.175$ ,  $p<0.001$ ,  $p=0.165$ ); grup dağılımı normal olmayan glukoz, amilaz ve sodyuma Wilcoxon-Signed-Rank testi uygulandı (sırasıyla  $p<0.001$ ,  $p=0.635$ ,  $p=0.248$ ). Glukoz ve kalsiyum parametreleri arasında anlamlı farklılık saptandı ve bu parametreler için  $rst>sst$  ve  $sst>rst$  olan değerler ayrı ayrı kategorize edildi. Bu farkların anlamlılığı için Mann-Whitney U testi yapıldı ve glukoz ve kalsiyum için anlamlılık sırasıyla  $p=0.909$ ,  $p=0.066$  idi. Üre, amilaz, sodyum ve potasyum parametrelerinde ise anlamlı fark yoktu.

**Sonuç:** Glukoz ve kalsiyum için paired t testinde fark olmasına rağmen, bu fark sistematik değildi. Kısa pıhtılaşma zamanı ve az hemoliz düşünüldüğünde RST tüpleri avantajlı görülmektedir. Bu tüplerin seçimi maliyet analizi değerlendirmeleri de göz önünde bulundurularak önerilebilir.

**Anahtar Sözcükler:** RST, SST, preanalitik, pıhtılaşma, interferans, hemoliz

### ABSTRACT

**Objective:** At Emergency Department, we aimed to compare the test results of serum samples obtained from the tubes containing thrombin to take short span of time for clotting (RST) with the tubes containing serum separator gel with clot activator (SST II Advance) that we have used before.

**Materials and Methods:** Samples were taken from the patients into the two different tubes (RST ve SST II Advance) simultaneously. According to manufacturer's instructions, RST tubes were inverted

Bu çalışma Türk Klinik Biyokimya Derneği tarafından düzenlenen VIII. Ulusal Biyokimya Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

5-6 times, and centrifuged after 5 minutes, SST II Advance tubes were inverted 5-6 times, and centrifuged after 30 minutes (1600xg, 10 minutes). In 48 patients' serum samples glucose, urea, amylase, calcium, sodium, potassium levels were measured duplicately.

**Results:** According to Kolmogorov-Smirnov test, urea, calcium and potassium levels were scattered homogeny and for these parameters paired sample t test was performed ( $p=0.175$ ,  $p<0.001$ ,  $p=0.165$  respectively); glucose, amylase and sodium levels were non-homogeny and for these parameters Wilcoxon-Signed-Rank test was applied ( $p<0.001$ ,  $p=0.635$ ,  $p=0.248$ , respectively). There was a significant difference between glucose and calcium levels and these parameters were classified for  $rst>sst$  and  $sst>rst$ . For significance level of these differences Mann-Whitney U test was performed and it was  $p=0.909$ ,  $p=0.066$  for glucose and calcium respectively. There were no significant differences for urea, amylase, sodium and potassium parameters.

**Conclusion:** Although glucose and calcium were significantly different in paired t test, these differences were not systematic. Regarding short clotting time and less hemolysis, RST tubes seem to be advantageous. The utilization of these tubes can be recommended after considering cost-benefit analysis.

**Key Words:** RST, SST, preanalytic, coagulation, interference, hemolysis

## GİRİŞ

Klinik biyokimya preanalitik hata kaynakları, hataların büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Bu yüzden sonucun güvenilirliği açısından analiz öncesi hata kaynaklarını irdelemek ve azaltmayı amaçlamak gerekir. Plazma veya serum, örnek alındığı andan itibaren mümkün olduğu kadar kısa sürede, hücrelerden mutlaka ayrılmalıdır. Düz ve silikon kaplı cam tüplerde pıhtılaşma 20-30 dakika içinde tamamlanırken, plastik tüplerde bu süre daha uzundur (1).

Thrombin omurgalı canlıların plazmasında bulunan, pıhtılaşmada önemli rol oynayan serin proteaz enzimdir. Canlı organizmada bu enzimin değişik düzenleyicileri vardır (2). Plazmadaki çeşitli proteinler (3), prokoagülan aktiviteyi artıran salgılar (4), hastalara verilen değişik antikoagülanlar, kullanılan diğer ilaçlar (5-7) koagülasyon, fibrinolizis üzerinde değişik düzeyde etkiler oluşturur. Trombin yapım miktarı bireylerde değişkenlik gösterir;

5 ng/mL kadar düşük olabileceği gibi, 98 ng/mL'ye kadar yüksek de olabilir (8). Bütün bu farklılıklar pıhtılaşma sürecinde değişkenliğe ve dolayısıyla santrifüj sonrası elde edilen serum kalitesinde farklılıklara yol açabilir.

Kısa sürede pıhtılaşmayı sağlayan trombinli jelli tüpler (RST), trombinle temas eden kan örneği fazla beklemeden serum elde edilmesini kolaylaştırmaktadır. Çalışmamızda bu tüplerle daha önceden kullanmakta olduğumuz pıhtı aktivatörlü jelli tüpleri (SST II Advance) kıyasladık. Tüplerin fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. İki tüp arasındaki kimyasal farklılıklar pıhtı aktivatörü ve ayırıcı jelin yapısından kaynaklanır. Çalışmamızda bu iki farklı tüpten elde edilen serum örneklerinde, laboratuvarımızda end-point (glukoz, kalsiyum), enzimatik (amilaz) ve indirek ISE (sodyum, potasyum) yöntemlerle çalışılan altı adet acil test parametresinin sonuçlarında olası farklılıklar araştırılmıştır.

**Tablo 1.** Tüplerin özellikleri.

	SSTTM II Advance	RST
Dolum hacmi	8.5 ml	4 ml
Ayırıcı jel	Akrilik tabanlı polimer jel	Polyolefin oligomer
İç kaplama	silikon	silikon
Tüp iç duvar materyali	Poliyeten teraflat (PET)	Poliyeten teraflat (PET)
Pıhtı aktivatörü	silika	Trombin tabanlı medikal pıhtı ajanı
Kapak iç yüzey materyali	silikon	silikon

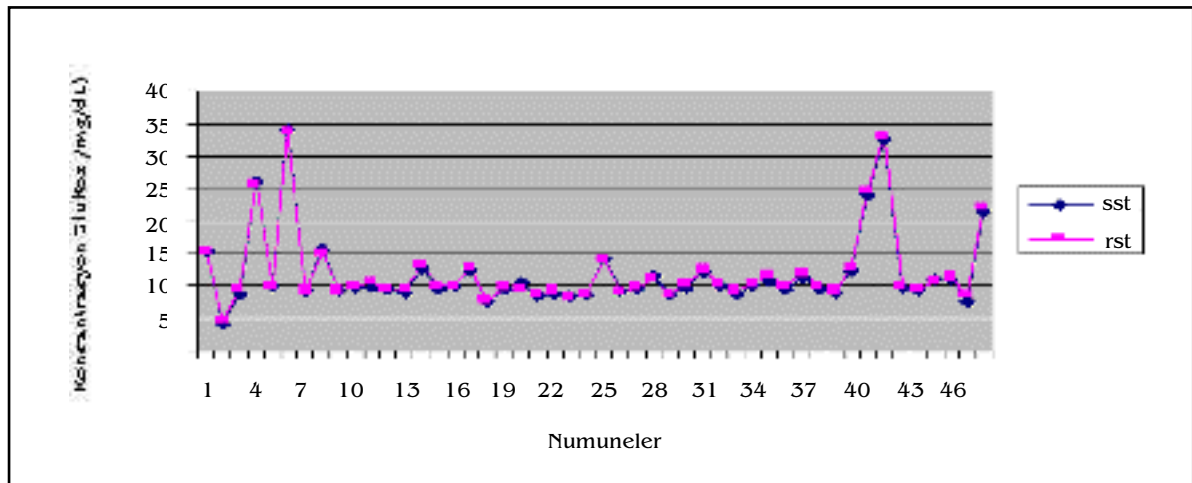
## GEREÇ VE YÖNTEM

Acil Serviste görevli 3 hemşire tarafından, 4 gün boyunca 50 hastadan aynı iğne ile tek seferde eş zamanlı alınan kan örnekleri ile çalışma gerçekleştirildi. İnterferansa yönelik farklı tüp kıyaslamalarının yer aldığı çalışmalarda izlenen yöntemler incelenerek (8,10) üreticinin önerdiği şekilde, serum ayırıcılı pıhtı aktivatörlü jelli tüpler (8.5 ml, 16 x 100) Becton Dickinson Vacutainer® SSTTM II Advance (kat no: 367953, lot no: 7261098; BD Diagnostics, Franklin Lakes, USA) 5-6 kez alt-üst edilip 30 dakika bekletildi. Karşılaştırdığımız hızlı pıhtılaştırıcı trombinli jelli tüpler (4 ml, 13 x 100) Becton Dickinson Vacutainer® RST (kat no: 368771, lot no: 070605; BD Diagnostics, Franklin Lakes, USA) olup, 5-6 kez alt-üst edildikten sonra 5 dakika bekletildi. Tüm tüpler 1600xg'de 10 dakika santrifüj edildi (11). SST tüplerinin ikisinde gözle görülür hemoliz fark edilmesi nedeniyle 2 hastaya ait örnekler çalışma dışı bırakıldı. 48 hastadan aynı zamanda alınan, iki farklı tüpten elde edilen serum örneklerinde, glukoz (hekzokinaz), üre (ürez), amilaz (2-Cl PNP non-blocked G7), kalsiyum (arsenazo), sodyum (ISE, indirek), potasyum (ISE, indirek) testleri, Olympus AU 2700 otoanalizörü ile (Olympus Life and Material

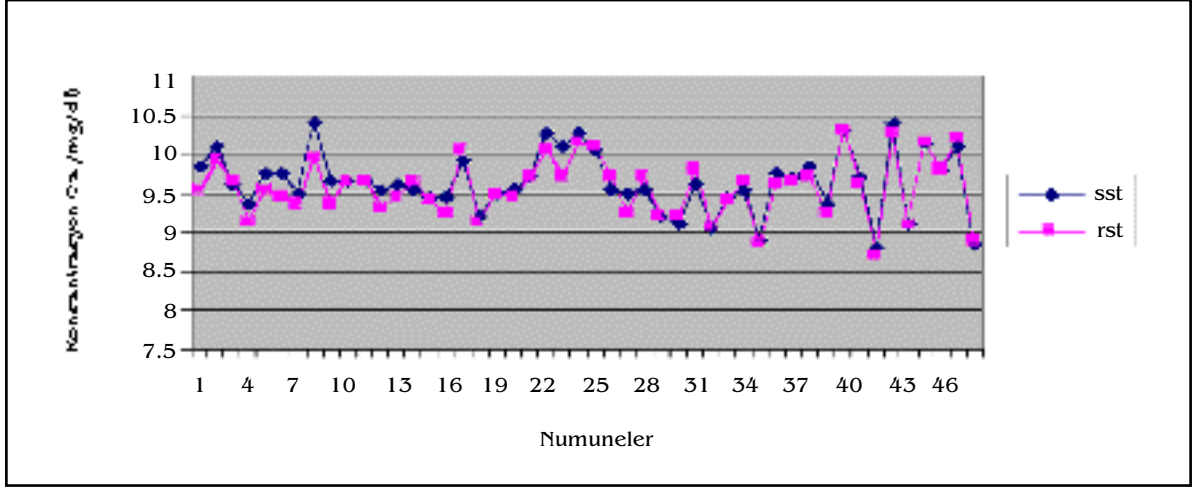
Science GmbH, Ireland) ikişer kez çalışıldı. İstatistiksel analiz SPSS 11.5 ile yapıldı.

## BULGULAR

1. SST II Advance tüplerde (%4) gözle görülür (+2) hemoliz fark edilmesi nedeniyle bu hastalara (n=2) ait tüm örnekler çalışma dışı bırakıldı.
2. Cihazın glukoz, üre, amilaz, kalsiyum, sodyum, potasyum test parametreleri için günler-arası CV değerleri (%) sırasıyla, düzey-1 kontrol için 1.45; 3.86; 3.35; 0.59; 2.62; 3.03; düzey-2 kontrol için 1.84; 3.97; 3.09; 1.07; 2.30; 2.23 idi.
3. Kolmogrov Smirnov testi ile grup dağılımı normal olan üre, kalsiyum ve potasyumun paired sample t testi ile elde edilen p değerleri sırasıyla p=0.175, p<0.001, p=0.165; grup dağılımı normal olmayan glukoz, amilaz ve sodyumun Wilcoxon-Signed-Rank testi ile elde edilen p değerleri sırasıyla p<0.001, p=0.635, p=0.248 idi.
4. Anlamlı farklılık saptanan glukoz ve kalsiyum parametreleri için fark serisi oluşturularak RST>SST ve SST>RST olan değerler ayrı ayrı kategorize edildi (Şekil 1, Şekil 2). Bu farkların anlamlılığı için yapılan Mann-Whitney U testinde glukoz ve kalsiyum için anlamlılık düzeyi sırasıyla p=0.909, p= 0.066 idi.



Şekil 1. Kalsiyum değerlerinin şematik gösterimi.



Şekil 2. Glukoz değerlerinin şematik gösterimi.

## TARTIŞMA

Acil Servisi bünyesinde yer alan laboratuvarların hızlı sonuç verebilmesinde, yerel şartlar göz önünde bulundurularak preanalitik sürecin en iyi şekilde düzenlenmesi gerekir. Özellikle sonucun doğru ve en kısa sürede verilmesi amaçlanır, bu sayede klinisyenin hastaya müdahalesine gecikmeksizin olanak sağlanabilir. Laboratuvarlarda kullanılan analitik yöntemlerin teknolojik olarak hızla gelişmesiyle birlikte, hastadan alınan örneklerin analize hazırlanması da, daha modern tekniklerin kullanımını gerektirmektedir. Plazma veya serumun hücrelerden olabildiğince çabuk ayrıştırılması, oda sıcaklığında optimal analit stabilitesi sağlar. Serum örneklerinde analit stabilitesinin, plazma örneklerine kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmektedir (12). Jelli, düz serum tüpleri ve lityum heparinli plazma tüplerinin kıyaslandığı bir diğer çalışmada jelli tüplerin analit stabilitesini (özellikle potasyum) sağlamada avantajlı olduğu gözlenmiştir (13).

Rutin çalışmalarda, potasyum ve glukozun stabilitesi en düşük test parametreleri oluşu nedeniyle oda sıcaklığında en fazla 3 saat içerisinde serumun ayrılmış olması önerilir (14). Jelli tüplerle yapılan bir çalışmada potasyum, glukoz, üre ve kalsiyumun belirgin ölçüde etkilendiği, nispeten stabil olma-

dığı gözlenmiştir (15). Bireysel biyolojik varyasyonun da hesaba katıldığı çalışmaların birinde, çok sayıda parametrenin oda sıcaklığında bekletilmesiyle önemli ölçüde değişikliğe rastlanmadığı bildirilmiştir (16). Bir diğerinde ise üç saat gecikmeli işleme alınan kan örneklerinde, glukozun düşmesi dışında değişen test sonucu olmadığı bildirilmiştir (17).

SST tüpleri kullanırken alt üst edildikten sonra oda ısısında 30 dakika bekletilmesi, üreticilerin önerisidir. Bu süreye, acil şartlarında uyulması mümkün değildir. Bu öneri dikkate alınmadan, başka bir deyişle kanın tam olarak pıhtılaşması beklenmeden erken santrifüj edildiğinde; berrak olmayan, fibrinli serum elde edilebilir ve serumun içerdiği bu fibrin parçacıkları gözden kaçabilir. Bu durum, analizörün problemlerinde fibrin tanımlayıcı sistem olmasına rağmen tıkanıklıklara bağlı arızaya neden olup, sistemin durmasına, hizmetin aksamasına, acil serviste ise hastaların bir süre mağduriyetine yol açabilmektedir. Ayrıca uzun vadede, cihaz performansı ve sonuçların güvenilirliğine yönelik olumsuzlukların yaşanması olasıdır.

Bizim çalışmamızda, üre, amilaz, sodyum ve potasyum test sonuçlarında tüplerden kaynaklanabilecek herhangi bir istatistiksel fark görülmemiştir. Glukoz ve kalsiyum için

paired t testinde fark olmasına rağmen, farkların ortalaması ve anlamlılığına göre bu fark sistematik değildir. Kalsiyum düzeylerinde gözlediğimiz farklılığın (istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ( $p=0.066$ )) ölçüm yönteminin (arsenazo III) mikrohemolize duyarlılığı nedeniyle olabileceği düşünülebilir. Santrifüjle ayrıştırma öncesinde geçirilen sürenin hemoliz derecesini belirlediği bildirilmiştir. Gözle fark edilemeyen mikrohemolizin, potasyum gibi parametrelerde, klinikle uyumsuz, yalancı yüksekliklerden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (18). Bizim çalışmamızda potasyumda mikrohemolizin interferans etkisi olabileceğini düşündüren herhangi bir istatistiksel veri bulunmamaktadır. Trombin içeriği dışında tüpler arasında başka farklılıklar da göz önünde bulundurulabilir; bunlardan biri içerdikleri jelin kimyasal yapısının ayrı oluşudur. Ayrıca kullanılan diğer malzemelerin ayrıntılı bilgisine sahip değiliz. Bütün bunlar glukoz ve kalsiyum testlerinde gözlediğimiz farklılıkla ilişkili olabilir ancak bunu açıklayabilecek verimiz yetersizdir.

Çalışmamızda istatistiksel olarak değerlendirilmeye alınmamış olsa da, SST tüplerinde gözle görülür hemoliz olduğu halde (%4), RST tüplerinde hemolize hiç rastlanmamıştır. Bu da SST tüplerine nazaran RST tüplerinde daha az mikrohemoliz olabileceğini akla getirir. Hızlı pıhtılaşmanın gerçekleşmesi sayesinde, eritrositlerin pıhtının içinde öncelikle tutulması sağlanacağından, eritrosit membranının parçalanması en aza indirgenmiş olabilir.

Çalışmamızın zayıf noktaları vardır. Cihazda hemoliz uyarısı dereceleri olmadığından, mikrohemoliz olasılığının saptanması amacıyla her iki tüpten elde edilen serumlarda, fotometrik olarak abzorbans değerleri alınabildi. Karşılaştırılan tüplerin çaplarının, dolayısıyla vakumun farklı oluşu hemoliz derecesini etkileyebileceğinden aynı hacimli tüplerin kıyaslanması daha doğru bir yaklaşım-

dır. Hemolizin çeşitli nedenleri arasında, hastadan kaynaklanan etkenler olabilir; ince hassas damarlı olan hastalar, diyaliz hastaları, kemoterapi görenler, çocuklar, yaşlılarda damar duvarının zedelenme olasılığı yüksektir. Bireysel biyolojik varyasyonu elimine edecek herhangi bir önlem de alınmamıştır. Hastaların tanılarının ve aldıkları ilaçların farmokokinetik özelliklerinin de değerlendirildiği, daha kapsamlı çalışmalarla interferanslar gerçek anlamda yorumlanabilir.

Kan alınan tüplerle ilgili interferansların, sıradan kalite kontrol veya geliştirme programları sayesinde ortaya çıkarılmayışı nedeniyle, laboratuvarları başka arayışlara yöneltir. Hasta sonuçlarının dağılımının izlenmesi bunlardan biridir (10). Normallerin ortalaması (average of normals-AON) yaklaşımında hasta test sonuçları, laboratuvar test süreç performansının değerlendirilmesi ve süreç stabilitesindeki değişiklikleri tespit etmek için kontrol materyalleri ile birlikte kullanılmaktadır. Söz konusu tüplerle alınan hasta örneklerinde böyle bir çalışma yapılabilir. Bu çalışmanın immünolojik yöntemlerdeki interferansa da yönelik ve daha kapsamlı yürütülmesi gerekmektedir.

Hızlı pıhtılaştırıcı trombinli jelli tüpler kanın sadece 5 dakika bekletilerek santrifüj edilebilmesi sayesinde sağladığı kullanım kolaylıkları nedeniyle özellikle acil kavramına önemli katkıda bulunacaktır. Bu tüplerin kullanımı, maliyet analizi değerlendirmeleri de göz önünde bulundurulmak şartıyla önerilebilir.

#### KAYNAKLAR

1. Donald S. Young, Specimen Collection and Processing. In: Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, David E. Bruns. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th ed. Missouri: Elsevier Saunders Company; 2006: 41-58.
2. Iwamori M, Iwamori Y, Ito N. Regulation of the activities of thrombin and plasmin by cholesterol sulfate as a physiological inhibitor in human plasma. J Biochem 1999; 125: 594-601.
3. Weisel JW. Fibrinogen and fibrin. Adv Protein Chem 2005; 70: 247-99.

4. Broussas M, Cornillet-Lefebvre P, Bernard J, Adjizian JC, Potron G, et al. Separation of dendritic cells from highly purified human monocytes by counterflow centrifugation induces tissue factor expression. *Transfusion* 2000; 40: 1088-94.
5. Zegura B, Guzic-Salobir B, Sebestjen M, Keber I. The effect of various menopausal hormone therapies on markers of inflammation, coagulation, fibrinolysis, lipids, and lipoproteins in healthy postmenopausal women. *Menopause* 2006; 13: 643-50.
6. Undas A, Celinska-Löwenhoff M, Löwenhoff T, Szczeklik A. Statins, fenofibrate, and quinapril increase clot permeability and enhance fibrinolysis in patients with coronary artery disease. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1029-36.
7. Salobir BG, Keber I, Vrabic L. A randomized, placebo-controlled trial of the effects of continuous combined hormone replacement therapy on coagulation and fibrinolytic systems in healthy postmenopausal women. *Fertil Steril* 2002; 78: 1178-83.
8. Kılınç AŞ, Düzoylum A, Uncuğil F, Yücel D. Vakumlu jelli (SST) ve vakumlu düz tüplerin bazı tümör belirteçleri ve hormonlar açısından karşılaştırılması. *Türk J Biochem* 2003; 28: 264-7.
9. Sato S, Tsukada T. [Effects of thrombin produced in blood prior to mixing with anticoagulant on the platelet function and blood coagulation tests] *Rinsho Byori* 1990; 38: 813-8.
10. Bowen RA, Chan Y, Cohen J, Rehak NN, Hortin GL, Csako G, et al. AT. Effect of blood collection tubes on total triiodothyronine and other laboratory assays. *Clin Chem* 2005; 51: 424-33.
11. Becton Dickinson Vacutainer® ürün kataloğu 2007/2008.
12. Boyanton BL, Blick KE. Stability of twenty-four analytes in human plasma and serum. *Clin Chem* 2002; 48: 2242-7.
13. O'Keane MP, Cunningham SK. Evaluation of three different specimen types (serum, plasma lithium heparin and serum gel separator) for analysis of certain analytes: clinical significance of differences in results and efficiency in use. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 662-8.
14. Zhang DJ, Elswick RK, Miller WG, Bailey JL. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clin Chem* 1998; 44(6 Pt 1): 1325-33.
15. Tanner M, Kent N, Smith B, Fletcher S, Lewer M. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation. *Ann Clin Biochem* 2008; 45(Pt 4): 375-9.
16. Clark S, Youngman LD, Palmer A, Parish S, Peto R, Collins R. Stability of plasma analytes after delayed separation of whole blood: implications for epidemiological studies. *Int J Epidemiol* 2003; 32: 125-30.
17. Joshi AR. Variations in serum glucose, urea, creatinine and sodium and potassium as a consequence of delayed transport/processing of samples and delay in assays. *JNMA J Nepal Med Assoc* 2006; 45: 186-9.
18. Tamechika Y, Iwatani Y, Tohyama K, Ichihara K. Insufficient filling of vacuum tubes as a cause of microhemolysis and elevated serum lactate dehydrogenase levels. Use of a data-mining technique in evaluation of questionable laboratory test results. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 657-61.

---

**Yazışma adresi:**

Dr. Hale Aral  
Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma  
Hastanesi, Klinik Biyokimya Laboratuvarı  
İstanbul  
GSM : 0.532 220 01 50  
E-posta : drhalearal@yahoo.com

---