

# Tüp İçerisindeki Negatif Basıncın Hemoliz Üzerine Etkisi

## *Effect of Negative Pressure in the Tube on Hemolysis*

Arzu Kösem Canan Toğçuoğlu Sevilay Sezer Turan Turhan

Ankara Şehir Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

**Başvuru Tarihi:** 02 Haziran 2020

**Kabul Tarihi:** 14 Aralık 2020

### ÖZET

**Amaç:** Hemoliz yaygın olarak bilinen preanalitik hata kaynaklarından biridir. Kan alma tüpleri içerisinde bulunan ve kanın tüp içine akışını sağlayan vakum ise bir hemoliz nedenidir. Ancak tüp içerisinde bulunan ve yetersiz kan volümüne bağlı oluşan kalan vakumun hemoliz üzerine etkisi bilinmemektedir. Çalışmamızda, tüp içerisinde kalan bu vakumun hemoliz üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmamıza hastanemiz kan alma birimine gelen 49 hasta dahil edildi. Herbir hastadan randomize olarak 2 ayrı Becton Dickinson (BD) Vacutainer™ marka 5 ml'lik serum separator tüpe kan alındı. Tüplerden biri, 2 ml kan alınımında standardizasyonu sağlamak için işaretlendi ve bu işaretli bölgeye kadar hastalardan 2 ml kan alındı, diğeri üretici firmanın önerdiği gibi kullanıldı. 1500 g'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrılan örneklerden LDH, AST, K testleri Beckman Coulter AU 5800 cihazında çalışıldı. Sonuçlar paired-t testi ile değerlendirildi.

**Bulgular:** LDH, AST, K sonuçları düşük hacimli alınmış tüplerde normal hacimli olarak doldurulmuş tüp sonuçlarına göre daha yüksekti ( $p < 0.001$ ).

**Sonuç:** Yaptığımız çalışmada tüm tüplerde gözle görülür ve indeks ile saptanan hemoliz mevcut değildi. Buna rağmen AST, LDH, K düzeyleri yetersiz hacimli tüplerde anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Bu sonuçlara göre, tüp içerisindeki vakumun hemolize neden olduğunu sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Hemoliz; indeks; serum

### ABSTRACT

**Purpose:** A parameter associated with the result of a measurement that characterises the dispersion of the values that could reasonably be attributed to the measurand is defined as measurement uncertainty (U). Measurement uncertainty is very important for the clinician to provide medical judgement, diagnosis and treatment. The aim of this study was to determine the measurement uncertainty of FT4, FT3 and TSH parameters in our laboratory.

Arzu Kösem : 0000-0002-6213-1749  
Canan Topçuoğlu : 0000-0002-2058-9380  
Sevilay Sezer : 0000-0002-0926-3793  
Turan Turhan : 0000-0002-7316-1273

**Yazışma adresi:** Arzu Kösem  
Ankara Şehir Hastanesi,  
Biyokimya Laboratuvarı  
Ankara, Türkiye  
E-mail: arzukosem@gmail.com

**Material and Methods:** 49 patients who admitted to our hospital's blood collection unit were included in the study. Blood samples were randomly collected into two BD Vacutainer™ 5 ml serum separator tubes by venipuncture from each patient. One of the tubes was marked to ensure standardization in 2 ml of blood draw. Up to this marked area, 2 ml of blood was collected from the patients and the other blood tube was used as recommended by the manufacturer. After the samples were centrifuged at 1500 g for 15 minutes, LDH, AST, K tests were analyzed on the Beckman Coulter AU 5800. Results were evaluated with paired-t test.

**Results:** LDH, AST, K results were significantly higher in low volume tubes than normal volume filled tubes ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** In our study, there was no visible or index-calculated hemolysis in all tubes. However, AST, LDH, K levels were found to be significantly higher in low volume tubes. According to these results, of vacuum inside the tube concluded causes hemolysis.

**Key words:** Hemolysis; index; serum

## GİRİŞ

Hemoliz yaygın olarak bilinen preanalitik hata kaynaklarından biridir (1-3). Hemolizin nedenleri: flebotomist, uzun süre turnike uygulanması, kan alınan iğne çapının uygunsuz olması, enjektör ile kan alımı, numunelerin pnömotik sistemle taşınması, tüplerin uzun süre ve yüksek  $g$  kuvvetinde santrifüj edilmesi, kan alınan tüpteki vakum kaynaklı olabilir. Kan alma tüpleri içerisinde bulunan ve kanın tüp içine akışını sağlayan vakum da hemoliz nedenidir (4,5). Kan alımı sırasındaki akış hızı ile hemoliz arasındaki ilişki bilinmektedir (6-9).

Hemoliz ile hücre içinde bulunan potasyum (K), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrojenaz (LDH), magnezyum, fosfor, folat, kreatinin kinaz, demir, lipaz, troponin I düzeylerinde artış, sodyum (Na), klor (Cl), ACTH, parathormon, kalsitonin, gastrin, insülin, glukagon, gamaglutamiltransferaz (GGT), alkalin fosfataz (ALP), haptoglobulin, troponin T düzeylerinde düşme, bilirubin düzeylerinde de değişkenlik olabilir (10-12).

Çalışmamızda önerilenden daha az volümde kan alınan tüplerdeki vakumun hemoliz üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma için Yerel Etik Kurulu Onayı alınmıştır (17-1642). Çalışmamıza hastanemiz kan alma birimine gelen 49 hasta dahil edil-

miştir. Hastalardan BD Vacutainer®SST™ II Advance Serum Separatör tüplere kan alındı. Randomize olarak kan alınan tüplerden biri standardizasyonun sağlanması amacıyla 2 ml kan alacak şekilde işaretlediğimiz tüp, diğeri üretici firmanın önerdiği volümde alınan tüptür. 1500  $g$ 'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrılan örneklerden LDH, AST, K, direk bilirubin testleri Beckman Coulter AU 5800 cihazında çalışıldı. Her iki tüpteki Hb düzeyi cihazın hemoliz indeksi ile değerlendirildi.

## İstatistiksel analiz

Sonuçları değerlendirmek için SPSS 20 programı kullanıldı. Sonuçlar  $mean \pm SD$  olarak verildi.

İki grup arasındaki fark Paired Student-t testi ile değerlendirildi.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Düşük seviyeli numunelerde LDH, AST, K sonuç ortalamaları normal seviyeli numune sonuç ortalamalarından yüksek iken, normal seviyeli numunelerde direk bilirubin sonuç ortalamaları düşük seviyeli tüp sonuç ortalamalarından yüksek bulundu. İki grup arasında LDH, AST, K testlerinde anlamlı farklılık saptanırken ( $p < 0.05$ ) (Tablo1), direk bilirubin testinde anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 1.** Tüp Vakumunun Hemolize Etkisi  
**Table 1:** Hemolysis Effect of Tube Vacuum

	Normal hacimli tüp (mean±SD)	Düşük hacimli tüp (mean±SD)	P
LDH (U/L)	195.39±31.21	208.20±31.29	<0.001
AST (U/L)	24.37±7.56	25.16±7.518	<0.001
K (mmol/L)	4.44±0.367	4.49±0.36	<0.001
Direkt bilirubin (mg/dL)	0.13±0.06	0.12 ±0.54	0.368

## TARTIŞMA

Hemolizin preanalitik hata olarak laboratuvar test sonuçlarına etkisi ile ilgili yapılmış pek çok çalışma olmakla birlikte, saklama koşullarına ve kullanılan metotlara bağlı olarak farklılık gösterebilen sonuçlar bulunmuştur.

Köseoğlu ve ark. yaptıkları çalışmada 5 farklı seviyede Hb içeren plazma örnekleri elde etmişlerdir. [Grup I: 0-10 mg/dL (hemolizsiz), Grup II: 10-50 mg/dL (çok hafif hemolizli), Grup III: 51-100 mg/dL (hafif hemolizli), Grup IV: 101-250 (orta hemolizli), Grup V: 250-450 (şiddetli hemolizli)]. Ağır hemolizli örneklerde K testinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulmuşlardır (p=0.002) (13).

Yücel ve ark. hemolizli serumlarda LDH, asit fosfataz ve K testlerinin hemolizden önemli derecede etkilendiğini saptamışlardır. Ağır hemolizi, Hb konsantrasyonu 113.6mg/dl olarak tanımlamışlardır (14), diğer araştırmacılar ise 300 mg/dl üzerindeki Hb düzeyini ağır hemoliz olarak kabul etmişlerdir (11,15).

Türkmen ve ark. 750 mg/dl Hb konsantrasyonunda direk bilirubin testini, 1500 mg/dl Hb konsantrasyonunda ise AST, direk bilirubin, total bilirubin, K testlerinin hemolizden etkilendiğini saptamışlardır (15).

Yiğitbaş ve ark. hemolizat ile hazırladıkları 0-3060 mg/dl arasında Hb konsantrasyonlarında 9 serum havuzu oluşturmuşlardır. Na, glukoz, Cl, total bilirubin, direk bilirubin değerlerinin orijinal değerlerden daha düşük; ALT, AST, K değerlerinde orijinal değerlerden daha yüksek değerlerin saptanmasına neden olduğunu gözlemişlerdir (16).

Biz çalışmamızda 0 mg/dl Hb (0), 45 mg/dl Hb (+), 140 mg/dl Hb (++), 235 mg/dl Hb (+++), 445 mg/dl Hb (++++)) olarak kabul ettik. Ancak yaptığımız çalışmada önerilen hacimde ve yetersiz hacimde kan alınan tüplerde gözle görülür ve indeks ile saptanan hemoliz mevcut değildi. Buna rağmen AST, LDH, K düzeyleri yetersiz hacimli tüplerde anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Bu durum yetersiz kan alınmasına bağlı olarak tüp içerisinde kalan vakumun gözle görülür bir hemolize neden olmasa da eritrosit membranının bütünlüğünü bozduğunu ve hücre içinde daha yüksek konsantrasyonda bulunan AST, LDH, K'un hücre dışına çıkmasına neden olduğunu düşündürmektedir.

Vakumlu tüpler ile kan alımı sırasında numune alım hacminin önemli olduğu ve alım esnasında yeterli kan hacminin sağlanması gerektiği kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Yiğitbaş T, Şentürk BA, Baskın Y, Öney M, Üstüner F. Hemolizin Rutin Acil Biyokimya Testlerine Etkisi. Türk Klinik Biyokimya Derg 2010; 8(3): 105-110.
2. Carraro P, Plebani M. Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. Clin Chem. 2007 Jul;53(7):1338-42.
3. Lippi G. Governance of preanalytical variability: travelling the right path to the bright side of the moon? Clin Chim Acta. 2009 Jun;404(1):32-6.
4. Xiao TT, Zhang QX, Hu J, Ouyang HZ, Cai YM. Residual Negative Pressure in Vacuum Tubes Might Increase the Risk of Spurious Hemolysis. Clin Lab. 2017 May 1;63(5):1009-1013.
5. Hu J, Zhang QX, Xiao TT, Pan MC, Cai YM. Residual Negative Pressure in Vacuum Blood-Collection Tube and Hemolysis in Pediatric Blood Specimens. Lab Med 2020 Jan 2;51(1):41-46.
6. CLSI. Hemolysis, icterus, and lipemia/turbidity indices as indicators of interference in clinical laboratory analysis; Approved Guideline. CLSI Document C56-A.Vol.32 No 10; Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.ISBN: 1-56238-799-5.

7. Lima-Oliveira G, Volanski W, Lippi G, Picheth G, Guidi GC. Pre-analytical phase management: a review of the procedures from patient preparation to laboratory analysis. *Scand J Clin Lab Invest.* 2017;77(3):153-63.
8. NCCLS. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; NCCLS H3-A5 Approved Standard—Fifth Edition.
9. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; CLSI H21-A5. Approved Guideline—Fifth Edition.
10. Pai SH, Cyr-Manthey M. Effects of hemolysis on chemistry tests. *Lab Med* 1991; 22: 408-10.
11. Carraro P, Servidio G, Plebani M. Hemolyzed Specimens: A Reason for rejection or a clinical challenge? *Clin Chem* 2000; 4: 306-7.
12. Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, Green S, Kitchen S, Palicka V, et al. Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46(6):764-72.
13. Koseoglu M, Hur A, Atay A, Çuhadar S. Effects of hemolysis interferences on routine biochemistry parameters. *Biochemia Medica* 2011;21(1):79-85.
14. Yücel D, Dalva K. Effect of in vitro hemolysis on 25 common biochemical tests. *Clin Chem* 1992; 38: 575-7.
15. Türkmen YH, Serdar MA, Haşimi A, Cihan M, Kurt Ü, Akman Ş, Kutluay T, Erbil MK ve ark. Hemoliz ve lipeminin biyokimyasal testlere etkisi ve lipemik etkinin uzaklaştırılmasında kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması. *Gülhane Tıp Dergisi* 2007; 49: 5-10.
16. Yiğitbaşı T, Şentürk BA, Basın Y, Öney M, Üstüner F. Hemolizin Rutin Acil Biyokimya Testlerine EtkisiTürk Klinik Biyokimya Derg 2010; 8(3): 105-110.