

Stabilność stężenia sodu, potasu i chlorków w surowicy przechowywanej w probówkach z aktywatorem krzepnięcia i separatorem żelowym

Serum stability of sodium, potassium and chloride concentration in special tubes containing separator and clotting activator

Łukasz Kraszula¹, Makandjou-Ola Eusebio¹, Piotr Kuna², Mirosława Pietruczuk¹

¹Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, II Katedra Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Klinika Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii, II Katedra Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Producenci oferujący zamknięte systemy do pobierania krwi, dołączają dane dotyczące stabilności oznaczanych parametrów laboratoryjnych, które nie zawsze znajdują potwierdzenie w praktyce. Jednym z najczęściej zlecanych badań laboratoryjnych z wcześniej pobranego materiału jest oznaczenie stężenia elektrolitów. Dlatego podjęto próbę oceny stabilności stężenia elektrolitów (sodu, potasu i chlorków), w surowicy krwi, pobranej do probówek S-Monovette z aktywatorem krzepnięcia i separatorem żelowym.

Materiał i metody. Oznaczenie stężenia elektrolitów wykonano natychmiast po odwirowaniu próbek oraz po 48 i 96 godzinach przechowywania materiału do badań. Badania w próbkach pierwotnych, wykonano na analizatorze biochemicznym AU 480, metodą potencjometrii pośredniej z użyciem elektrod jonoselektywnych (ISE).

Wyniki. Analizę wyników, dla każdego oznaczanego parametru, przeprowadzono w odniesieniu do wartości prawidłowych i patologicznych (niskich i wysokich). Nie stwierdzono istotnych zmian w stężeniu badanych elektrolitów po 48 i 96 godzinach przechowywania materiału dla wartości prawidłowych i patologicznych – niskich. Jedynie w próbkach z hiperkaliemią stężenie potasu, w oznaczeniu wykonanym po 96 godzinach przechowywania, przekroczyło granicę błędów dopuszczalnego (dgb) dla tego parametru.

Wnioski: W przypadku badań wykonywanych w próbkach pierwotnych, z aktywatorem krzepnięcia i separatorem żelowym możliwe jest oznaczenie stężenia sodu, potasu i chlorków w czasie do 96 godzin od pobrania materiału do badań. Jedynym wyjątkiem, są pacjenci z hiperkaliemią gdzie oznaczenie stężenia potasu można zlecić z poprzednio pobranego materiału maksymalnie do 48 godzin.

Abstract

The sample stability information provided by the manufacturers is not always confirmed in practice. The electrolyte concentration is one of the most frequently requested laboratory tests. The aim of this study was to evaluate the stability of electrolytes (sodium, potassium and chloride) concentration in sample collected in S-Monovette tubes containing clotting activator and a separator gel.

Material and methods. Determination of electrolyte concentration was performed immediately after centrifugation of samples and after 48 and 96 hours of samples storage. The examination was performed using biochemical analyzer AU 480 equipped in ion-selective electrodes (ISE) – indirect potentiometry.

Results. The analysis of the results was carried out in relation to normal and pathological values (low and high). There were no significant changes in the concentration of electrolytes examined after 48 and 96 hours of samples storage for normal and low– pathological values. Only in samples with hyperkalemia, the concentration of potassium exceeded the limit of allowable error after 96 hours of samples storage.

Conclusions: It is possible to determine sodium, potassium and chloride concentrations up to 96 hours from the collection of samples, in the case of laboratory tests performed using primary samples, with a clotting activator and a separator gel. Only in specimens with hyperkalemia, the potassium concentration can be determined up to 48 hours.

Słowa kluczowe: elektrolity, stabilność elektrolitów, próbki pierwotne.

Key words: sodium, potassium, electrolyte stability.

Opis przypadku

U 61 letniego pacjenta, od 20 lat chorującego na umiarkowaną postać astmy oskrzelowej zaistniała konieczność oznaczenia stężenia elektrolitów z poprzednio pobranego, zabezpieczonego w laboratorium materiału. Po odwirowaniu, surowicę przechowywano po wykonaniu innych badań, w probówkach z aktywatorem krzepnięcia i separatorem żelowym, przez 48 godzin. Prośba o oznaczenie stężenia elektrolitów w zabezpieczonym uprzednio materiale, wynikała z konieczności oznaczenia stężenia jonów przy trudnościach z ponownym pobraniem krwi od pacjenta. Zgodnie z informacją podaną przez producenta systemu do pobierania krwi „większość parametrów pobranych do probówek z aktywatorem krzepnięcia i separatorem żelowym pozostaje stabilna przez 48 godzin”. Laboratorium wykonało oznaczenie stężenia sodu, potasu i chlorków, uzyskując wyniki: Na^+ – 138 mmol/L, K^+ – 6,4 mmol/L, Cl^- 103 mmol/L. Ponieważ tak znacząca hiperkaliemia nie była adekwatna do stanu klinicznego pacjenta przeanalizowano proces przedanalizyczny i postanowiono sprawdzić stabilność stężenia elektrolitów. Nie wykazano przyczyn hiperkaliemii rzekomej tj. w surowicy nie stwierdzono obecności hemolizy (ocena wzrokowa jak i spektrofotometryczna), wartości elementów morfotycznych krwi znajdowały się w zakresie referencyjnym, pacjentowi nie podano płynów infuzyjnych zawierających potas. Po przeprowadzonej analizie procesu przedanalizycznego stwierdzono, że przyczyną uzyskania fałszywie wysokiego stężenia potasu było ponowne odwirowanie próbki pierwotnej z aktywatorem krzepnięcia i separatorem żelowym, co spowodowało uszkodzenie bariery żelowej i przeniknięcie jonów potasu przez warstwę żelu. Przeprowadzono dodatkowo badania potwierdzające stabilność stężenia sodu, potasu i chlorków w surowicy, wyniki badań przedstawiono poniżej.

Wstęp

Standardy jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych (MLD) jak i Norma PN-EN ISO 15:189, wymagają aby medyczne laboratoria diagnostyczne określiły warunki przechowywania materiału do badań laboratoryjnych po ich wykonaniu. Ustalenia te powinny dotyczyć wszystkich rodzajów wykonywanych badań w laboratorium, ze szczególnym uwzględnieniem warunków, w tym maksymalnego czasu przechowywania [1, 2].

Wyniki badań laboratoryjnych, wykonanych w dopuszczalnym czasie przechowywania materiału do badań, nie mogą zmienić

wartości klinicznej uzyskanego wyniku, a także nie powinny przekroczyć błędu dopuszczalnego, który jest analitycznym kryterium oceniającym poprawność oznaczenia. Dlatego informacja o maksymalnym czasie wykonania badania, powinna zostać podana w oparciu o badanie stabilności danego parametru, z uwzględnieniem jego okresu półtrwania.

Najczęściej w MLD, próbki przechowuje się w przypadku reklamacji wyników badań ze strony zleceniodawcy, czy zlecenia dodatkowych badań z wcześniej pobranego materiału. Należy podkreślić, że rutynowo przechowywane próbki mogą być także wykorzystane do kontroli odtwarzalności metod analitycznych. Szczególny nacisk należy położyć na zlecenie dodatkowych badań, w próbkach unikatowych, np. pobranych przed wdrożeniem postępowania diagnostyczno-terapeutycznego (np. markery nowotworowe, hormony), gdzie wyniki tych badań wykorzystuje się do monitorowania terapii pacjenta. Zlecenie dodatkowych badań z próbek pobranych wcześniej daje możliwość ich wykonania bez konieczności ponownej flebotomii, co jest szczególnie ważne w przypadku pacjentów, u których występuje tzw. trudny dostęp naczyniowy, występuje lęk przed nakłuciem lub hemofobia. W naszym laboratorium oszacowano liczbę badań zleczanych z próbek pobranych wcześniej na około 5%. Medyczne laboratoria diagnostyczne, powinny swoim zleceniodawcom podawać informację o czasie, w jakim mogą być zlecone dodatkowe badania oraz wskazać materiał.

Załącznik nr 3 do Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 23 marca 2006 roku w sprawie standardów, jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych „Maksymalne czasy od pozyskania materiału do wykonania badania” zawiera wymagania odnośnie stabilności materiału dla większości parametrów laboratoryjnych [3]. Wszyscy producenci systemów do pobierania krwi muszą dostosować swoje produkty do wymagań opisanych w załączniku nr 3. Należy podkreślić, że większość przedstawionych tam danych odnośnie stabilności parametrów laboratoryjnych, nie znajduje zastosowania w praktyce klinicznej, ponieważ lekarz oczekuje wyniku badania laboratoryjnego w krótkim czasie. Dlatego w większości medycznych laboratoriów diagnostycznych rutynową praktyką jest przechowywanie próbek pierwotnych do badań biochemicznych przez 48 godzin, w temperaturze 2-8°C, czyli w czasie znacznie krótszym niż określonym w w/w załączniku (tab. I).

Wykonywanie badań w próbkach pierwotnych z oznaczeniem kodowym, eliminuje ryzyko pomyłek występujące przy przenoszeniu

Tabela I. Charakterystyka próbek badanych.

	Próbki badane	Liczba próbek	Kryteria laboratoryjnej interpretacji wyniku	Stabilność w surowicy/osoczu 4-8°C wg. załącznika nr 3
Kaliemia	Hipokaliemia	30	<3,5 mmol/L	6 tygodni
	Normokaliemia	30	3,5 – 5,1 mmol/L	6 tygodni
	Hiperkaliemia	30	> 5,1 mmol/L	6 tygodni
Natremia	Hiponatremia	30	<135 mmol/L	2 tygodnie
	Normonatremia	30	135-145 mmol/L	2 tygodnie
	Hipernatremia	30	>145 mmol/L	2 tygodnie
Chloremia	Hipochloremia	30	<95 mmol/L	1 tydzień
	Normochloremia	30	95 – 105 mmol/L	1 tydzień
	Hiperchloremia	30	> 105 mmol/L	1 tydzień

surowicy do próbek wtórnych. Stosowanie próbek pierwotnych, bez dodatków lub tylko z aktywatorem krzepnięcia jest wskazane, gdy badania będą wykonane w krótkim czasie po pobraniu. Aktywator krzepnięcia obecny w probówkach ma za zadanie skrócić czas wykrzepiania próbki, co przekłada się na skrócenie czasu TAT (*Time around Time* – czas od wydania zlecenia wykonania badania do uzyskania wyniku) i ma szczególne znaczenie w przypadku badań zlecanych w trybie „CITO”. Stosowanie próbek z aktywatorem krzepnięcia i separatorem żelowym jest wskazane, gdy badania będą wykonywane zarówno w trybie „CITO” jak i po dłuższym czasie lub próbki będą przechowywane, z możliwością późniejszego zlecenia badań laboratoryjnych. Pobieranie krwi do takich próbek ma zastosowanie również w laboratoriach, w których próbki są gromadzone, w celu wykonania badań. Separatory żelowe obecne w probówkach, stanowią fizyczną barierę zapobiegającą zmianie stężenia mierzonych analitów, dlatego zwiększają stabilność parametrów oznaczanych w surowicy, próbkach pierwotnych [4].

Na polskim rynku dostępne są różne systemy do pobierania krwi np.: S-Monovette, Vacutainer, Vacuette, Impovacuter, Primavette, mLVacuol, z których korzystają laboratoria. Ocena stężenia elektrolitów (sodu, potasu i chlorków) jest rutynowym badaniem wykonywanym w każdym laboratorium, oraz jednym z najczęstszych badań laboratoryjnych dołączanych przez lekarzy. Według załącznika nr 3 parametry te prezentują dobrą stabilność (tab. I). Jednak producent próbek S-Monovette podaje informację, że przechowując próbki w temperaturze od 2 do 8°C większość parametrów pozostaje stabilna przez maksymalnie 48 godzin. Producent nie wyróżnia jednak poszczególnych rodzajów parametrów. Dane literaturowe są trudne do porównania, ponieważ ocenę stabilności wykonywano przy wykorzystaniu różnych systemów do pobierania krwi, a próbki przechowywano w różnych warunkach.

Celem pracy było sprawdzenie stabilności stężenia elektrolitów (jonów sodu, potasu i chlorków) w surowicy pobranej w systemie aspiracyjno-próżniowym, do próbek S-Monovette z aktywatorem krzepnięcia i separatorem żelowym.

Materiał i metody

Krew żylną pobierano od pacjentów szpitala USK nr 1, w celu oznaczenia stężenia jonów sodu, potasu i chlorków. Materiał pobierano do próbek z aktywatorem krzepnięcia (mikrogranulki) i separatorem żelowym SARSTEDT, S-Monovette, Serum Gel 4,9 ml. Kryterium klinicznym wyłączenia próbek pacjentów z badania była: nadpłytkowość, hiperleukocytoza, hipoproteinemia, hiperproteinemia, lipemia, zaburzenia równowagi kwasowo – zasadowej oraz ostre zatrucie alkoholem etylowym. Nie kwalifikowano także próbek od pacjentów, którzy byli leczeni heparyną lub przyjmowali doustne antykoagulanty. Kryterium laboratoryjnym wyłączenia próbek z badania była ocena prawidłowości wytworzenia warstwy żelowej. Jeżeli po odwirowaniu, warstwa żelowa nie w pełni oddzielała skrzep od surowicy, próbki były dyskwalifikowane z badania. próbki krwi podzielono na 3 grupy uwzględniając stężenie elektrolitów (niskie, prawidłowe i wysokie wartości – tab. I).

Podczas pobierania krwi żyłnej zastosowano standardową procedurę obowiązującą w USK nr 1 im. N. Barlickiego (AM 011).

U wszystkich pacjentów pobranie krwi przeprowadzono na czczo tzn. 12 godzin od spożycia ostatniego posiłku, w godzinach 7:30 – 10:00. Do pobierania krwi stosowano zamknięte systemy aspiracyjno-próżniowe S-Monovette firmy SARSTED. Krew pobierano w objętości zgodnej z zaleceniami producenta systemu pobierania krwi. Aby ograniczyć możliwość uzyskania fałszywych wyników stężenia elektrolitów, przy pobraniu stosowano podstawowe zasady:

- nie oklepywano i nie pocierano skóry w okolicy miejsca nakłucia pacjenta
- pacjenci nie zaciskali pięści przed i w trakcie pobierania krwi
- po zdezynfekowaniu skóry w miejscu planowanego wkłucia, czekano 30 sekund do momentu odparowania preparatu antyseptycznego
- nie zaciskano stazy dłużej niż przez 1 minutę

Próbki krwi po pobraniu nie były mieszane i odstawiono je na 30 minut w celu pełnego wykrzepienia. Po 30 minutach próbki były natychmiast transportowane do laboratorium, w pozycji pionowej, w temperaturze pokojowej, przez wyznaczony do tego celu personel.

Wszystkie próbki były wirowane z siłą 2500g przez 10 minut, w temperaturze pokojowej celem uzyskania surowicy.

Oznaczenie stężenia jonów sodu, potasu i chlorków wykonano:

- natychmiast po odwirowaniu
- po 48 godzinach (zgodnie z zaleceniami producenta)
- po 96 godzinach (zgodnie z załącznikiem nr 3 do Rozporządzenia MZ)

Przed kolejnym oznaczeniem próbki surowicy przechowywano w zamkniętych probówkach, w temperaturze 4±2°C, aż do czasu ponownego przeprowadzenia badania. W żadnej z badanych próbek nie wykazano, w surowicy śladów hemolizy zarówno po pobraniu krwi jak i po 48 i 96 godzinach przechowywania. próbki były wirowane tylko raz w celu uzyskania surowicy.

Oznaczenie stężenia jonów sodowych, potasowych i chlorkowych wykonano przy użyciu analizatora biochemicznego AU 480, (Beckman Coulter) zgodnie z instrukcją producenta, używając oryginalnych odczynników i kalibratorów (ISE High/Low Serum Standard, Lot 2662, ISE Reference Lot 1554, ISE MID, Lot 2599, ISE buffet, Lot 2600, ISE Selectivity Na/K, Lot 1499).

W badanych grupach wykonano dodatkowo ilościową ocenę stężenia wolnej hemoglobiny, bezpośrednio po pobraniu oraz po 48 i 96 godzinach przechowywania surowicy w próbkach pierwotnych z separatorem żelowym.

Statystyczne opracowanie wyników przeprowadzono przy użyciu programu STATISTICA wersja 12 PL. Zmienne ilościowe przedstawiono, jako medianę, kwartyle górny i dolny. Test ANOVA Friedmana i wsp. zgodności Kendala używano w celu porównania wielu grup niezależnych. Do porównania dwóch grup niezależnych użyto testu kolejności par Wilcozona. Za istotne statystycznie uznawano wartości prawdopodobieństwa $p < 0,05$.

Analizyczną interpretację wyników przeprowadzono na podstawie oceny przekroczenia dopuszczalnej granic błędów (dgb) dla

badanych parametrów. Za granicę błędu dopuszczalnego przyjęto wartości podawane przez Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Laboratoryjnej (COBJwDL). DGB wg. COBJwDL dla stężenia jonów sodowych wynosi $\pm 3\%$, jonów potasowych $\pm 4,5\%$ i jonów chlorkowych $\pm 4\%$.

Wyniki

Kryterium oceniające stabilność próbek zawierało ocenę przekroczenia dopuszczalnych granic błędów. Nie stwierdzono obecności wolnej hemoglobiny w badanych próbkach.

Ocena statystyczna różnic pomiędzy badanymi grupami

Wszystkie analizy przeprowadzono w odniesieniu do oznaczeń wykonanych bezpośrednio po pobraniu (próbka 0). W większości badanych parametrów nie wykazano znamiennej statystycznie różnic w stężeniu badanych elektrolitów po 48 i 96 godzinach przechowywania materiału do badań. Jedynie w grupie pacjentów z hiperkaliemią wykazano znamiennej statystyczną różnicę ($p < 0,05$) pomiędzy oznaczeniem stężenia potasu wykonanym bezpośrednio po pobraniu a wartością uzyskaną po 96 godzinach przechowywania próbek (tab. II). Wzrost stężenia potasu wyniósł $0,3 \text{ mmol/L}$, w odniesieniu do wartości wyjściowej. W grupie pacjentów z normonatremią stwierdzono znamiennej statystyczną różnicę pomiędzy oznaczeniem stężenia jonów sodu wykonanego bezpośrednio po pobraniu a wartością uzyskaną zarówno po 48 jak i 96 godzinach przechowywania próbek ($p < 0,05$). Wzrost stężenia sodu wyniósł 2 mmol/L . Nie zaobserwowano znamiennej statystycznie różnic dla oznaczeń stężenia jonów chlorkowych, w żadnej, z badanych grup.

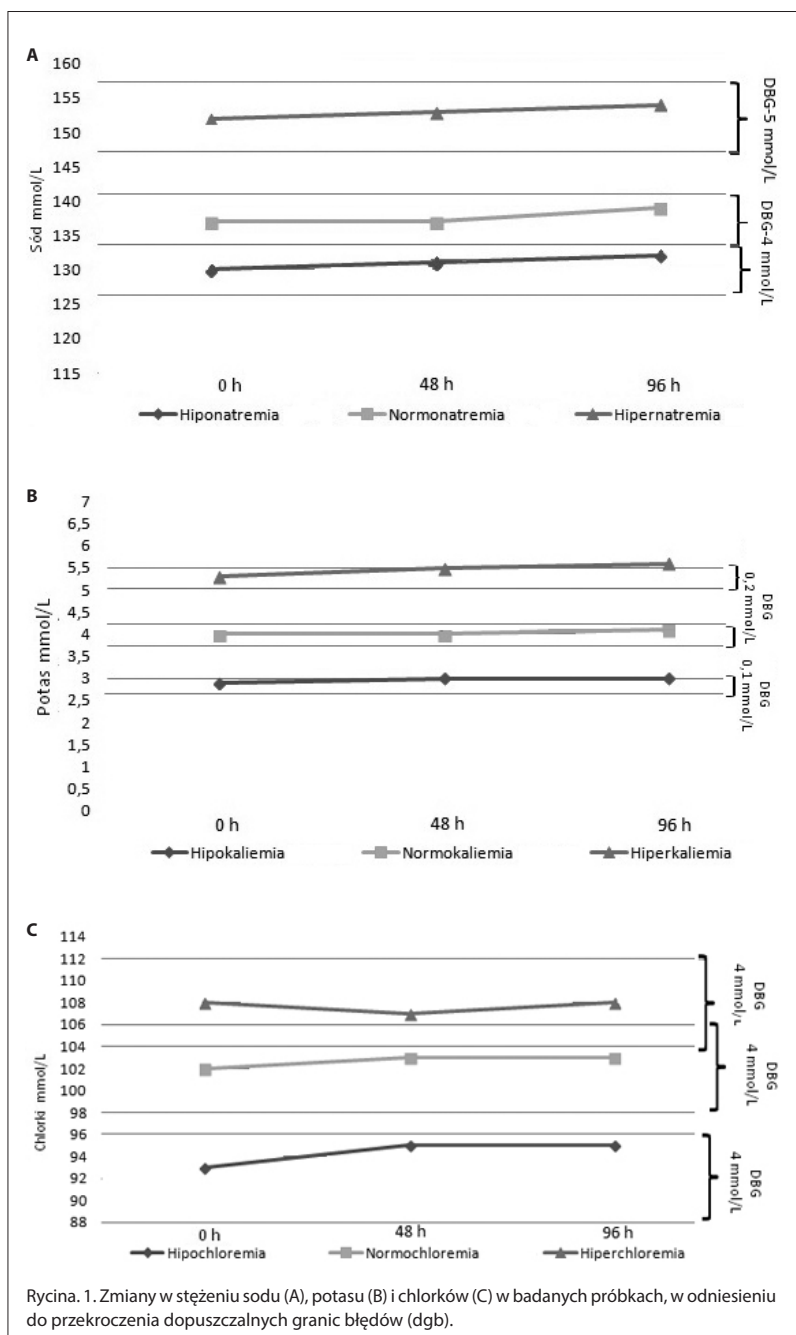
Przekroczenie dopuszczalnych granic błędów (dgb)

Przekroczenie wartości dopuszczalnych granic błędów zaobserwowano jedynie w przypadku grupy próbek z hiperkaliemią, przechowywanych przez 96 godzin (ryc. 1B).

Nie zaobserwowano przekroczenia wartości dgb dla stężenia jonów sodowych i chlorkowych przez 96 godzin przechowywania próbek pierwotnych (ryc. 1A i C).

Dyskusja

Organizacja pracy w medycznych laboratoriach diagnostycznych koncentruje się na ukierunkowanym na pacjenta zarządzaniu czasem i wydajnością procesów przedanalizy, analizy i poanalizy. Dlatego możliwość zlecenia dodatkowych badań laboratoryjnych w przechowywanej próbce ma istotne zalety takie jak: zmniejszenie ilości pobrań krwi od pacjenta, liczby nakłuć, kosztów związanych z dodatkowym pobieraniem krwi do nowych próbek i skrócenie czasu TAT. Warunkiem takiego postępowania jest odpowiednia stabilność oznaczanych parametrów w materiale biologicznym, czyli zachowanie jego integralności.



Rycina. 1. Zmiany w stężeniu sodu (A), potasu (B) i chlorków (C) w badanych próbkach, w odniesieniu do przekroczenia dopuszczalnych granic błędów (dgb).

Tabela II. Ocena statystyczna stabilności badanych próbek.

	0h vs 48h	0h vs 96 h	48 h vs 96 h
Hipokaliemia	NS	NS	NS
Normokaliemia	NS	NS	NS
Hiperkaliemia	NS	$p < 0,05$	NS
Hiponatremia	NS	NS	NS
Normonatremia	NS	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Hipernatremia	NS	NS	NS
Hipochloremia	NS	NS	NS
Normochloremia	NS	NS	NS
Hiperchloremia	NS	NS	NS

Wadą takiego postępowania jest możliwość utraty stabilności badanego materiału biologicznego, co może znaleźć odzwierciedlenie w zmianie stężenia lub aktywności danego parametru i co może przełożyć się na błędna kliniczną interpretację wyniku badania laboratoryjnego.

Stabilność większości parametrów biochemicznych w surowicy przechowywanej w temperaturze -20°C jest dobrze udokumentowana [5, 6]. Dotyczy to jednak przechowywania próbek przez długi czas. Rutynową praktyką w medycznych laboratoriach diagnostycznych jest przechowywanie próbek w temp. $4-8^{\circ}\text{C}$, najczęściej przez 48 godzin. Dlatego oceniliśmy stabilność stężenia elektrolitów w próbkach S-Monovette, z aktywatorem krzepnięcia i separatorem żelowym, przechowywanych w rutynowych warunkach (temp. $4-8^{\circ}\text{C}$). Warto podkreślić, że dla większości sytuacji jest to czas uzasadniony klinicznie do powtórzenia lub zlecenia dodatkowych badań.

Wiadomo, że zmiany w stężeniu jonów sodu i potasu w temperaturze ($4-8^{\circ}\text{C}$) istnieją i wynikają przede wszystkim ze zmniejszonej aktywności pompy sodowo-potasowej (ATP-azy sodowo-potasowej). Enzym ten usuwa z wnętrza komórki jony sodowe wymieniając je na jony potasowe, i charakteryzuje się obniżoną aktywnością w temperaturze ($4-8^{\circ}\text{C}$). Obniżona temperatura doprowadza, więc do podwyższenia stężenia jonów potasu i obniżenia stężenia jonów sodowych w surowicy/osoczu, które zachodzi *in vitro*, zgodnie z gradientem stężeń. Proces ten zachodzi już po 4 godzinach przechowywania pełnej krwi w temperaturze 4°C [6]. W próbkach S-Monovette oprócz aktywatora krzepnięcia, znajduje się dodatkowo żel poliakrylowy, który po odwirowaniu próbek tworzy stabilną warstwę rozdzielającą skrzep od surowicy. Rozdział ten jest możliwy dzięki wytworzeniu bariery żelowej, która powstaje podczas wirowania w gradiencie gęstości [7, 8]. Wytworzenie bariery pomiędzy surowicą a skrzepem powoduje, że próbki te mają kilka zalet w stosunku do próbek, w których obecny jest tylko aktywator krzepnięcia. Umożliwiają wykonywanie badań z próbek pierwotnych, co z kolei w istotny sposób ogranicza możliwość wystąpienia pomyłek przy pracy na próbkach wtórnych. Pozwalają również na łatwe rozdzielenie surowicy od elementów morfotycznych. Dodatkowo aktywator krzepnięcia powoduje przyspieszenie wytworzenia pełnego skrzepu, co przekłada się na skrócenie czasu TAT. Wadą tego systemu pobierania krwi jest wyższa cena.

Przy stosowaniu próbek z separatorem żelowym, warunkiem utrzymania stabilności stężenia analizowanych, w tym elektrolitów jest uzyskanie po odwirowaniu nieuszkodzonej warstwy żelowej. W przypadku uszkodzenia warstwy żelowej, nawet niewielka ilość erytrocytów może być przyczyną podwyższonego stężenia potasu w surowicy, który jako kation wewnątrzkomórkowy będzie dyfundował do surowicy wraz z gradientem stężeń. W żadnej z badanych próbek nie stwierdziliśmy uszkodzenia warstwy żelowej i obecności erytrocytów nad żelem. Również ilościowa ocena stężenia wolnej hemoglobiny, w każdej próbce, pozwoliła nam wykluczyć, fałszywy wzrost stężenia potasu w badanych grupach. W przeprowadzonym badaniu, w większości przypadków oznaczone parametry pozostały stabilne przez 96 godzin. Jedynym przypadkiem przekroczenia wartości dbg był wzrost stężenia

jonów potasu, tylko w surowicach z hiperkaliemią, oznaczonych po 96 godzinach przechowywania. Warto jednak podkreślić, że różnica w stężeniu potasu wyniosła $0,3\text{ mmol/L}$ w grupie pacjentów z hiperkaliemią, czyli nieznacznie więcej niż wynosi błąd dopuszczalny (dgb – $0,2\text{ mmol/L}$). Ponadto w pozostałych próbkach z normokaliemią nie wykazaliśmy wyników świadczących o hiperkaliemii rzekomej, co mogło skutkować wynikiem zgłaszanym jako wartość alarmowa. Natomiast w grupie próbek badanych z hipokaliemią żaden pacjent nie uzyskał wyników sugerujących rozpoznanie normo czy hiperkaliemii.

Zwiększone stężenia jonów potasu w surowicy, przechowywanej w próbkach z separatorem żelowym wykazali także inni badacze [9, 10]. Zwrócili oni uwagę na przenikanie erytrocytów przez barierę żelową. Przeprowadzone badanie nie potwierdziło wpływu tego mechanizmu na oznaczenie stężenia jonów potasu. Prawidłowe postępowanie z próbkami z separatorem żelowym i aktywatorem krzepnięcia w fazie przedanalitycznej ma fundamentalne znaczenie dla utrzymania stabilności stężenia elektrolitów w próbce [4]. Warto jednak wspomnieć, że dodatkowym niezbędnym czynnikiem wpływającym na uzyskanie prawidłowo wytworzonej warstwy żelowej separującej surowicę od skrzepu jest użycie w wirówce rotora horyzontalnego [11]. Kolejnym bardzo ważnym elementem procesu przedanalitycznego jest jak najszybsze odwirowanie krwi, co pozwala na oddzielenie surowicy od elementów morfotycznych. Jest to spowodowane faktem, że wydłużony kontakt surowicy z komórkami krwi jest często przyczyną uzyskania fałszywych wyników badań stężeń elektrolitów, z powodu dyfuzji jonów pomiędzy komórkami a osoczem.

Wyniki naszych badań są zgodne z badaniami Boyantona i wsp., którzy wykazali, że jeżeli krew natychmiast zostanie odwirowana po pobraniu, to stężenie potasu pozostaje stabilne przez 56 godzin [12]. Wykazano, że w przypadku pobrania krwi na skrzep, przechowywanej w postaci nieodwirowanej, w temperaturze pokojowej, wzrost stężenia potasu przekracza dopuszczalne granice błędu już po 3 godzinach od pobrania. W podobnych warunkach Boyanton i wsp. wykazali, że stężenie potasu pozostaje stabilne aż przez 24 godziny od pobrania materiału do badania [12].

Prawdopodobną przyczyną nieznacznego wzrostu stężenia jonów potasu, w próbkach pierwotnych, oznaczonego po 96 godzinach przechowywania może być parowanie próbek po otwarciu, przed wykonaniem ponownego oznaczenia oraz absorpcja wody z surowicy na warstwie żelu separującego. Oba mechanizmy mogą doprowadzić do hemokoncentracji próbek. W przeprowadzonym badaniu wzrost stężenia potasu w stosunku do wartości wyjściowej wyniósł w zależności od próbek, od $2,5\%$ dla normokaliemii do $5,6\%$ w grupie pacjentów z hiperkaliemią. W badaniu Madira i wsp. oceniającym stabilność próbek osocza z separatorem żelowym wzrost stężenia potasu wyniósł aż 36% , jednak trudno porównać wyniki tych badań, ponieważ wartość ta dotyczyła wzrostu stężenia potasu po 7 dniach przechowywania próbek [10].

Wbrew naszym oczekiwaniom i doniesieniom literaturowym, stężenie sodu w próbkach nie obniżyło się, co wynika z zahamowania działania pompy sodowo-potasowej w temperaturze ($4-8^{\circ}\text{C}$). Wykazaliśmy istotny statystycznie, ale nie analitycznie wzrost stężenia sodu zarówno po 48 jak i 96 godzinach przechowywania

próbek. Fakt ten podobnie jak w przypadku jonów potasu można tłumaczyć zjawiskiem absorpcji wody na warstwie żelu i parowaniem próbek, które następuje podczas otwarcia próbki przed ponownym wykonaniem oznaczenia. Do podobnych wniosków w swoim badaniu doszedł Schouwera i wsp. [13]. Natomiast w badaniu Heinsa i wsp. zwrócono uwagę na fakt, że kluczowym elementem fazy przedanalizacyjnej, który umożliwia utrzymanie stabilności stężenia sodu i chlorków w próbkach, jest jak najszybsze odseparowanie surowicy od elementów morfotycznych [14]. Należy podkreślić, że większość diagnostów laboratoryjnych i lekarzy dysponuje wiedzą, że stężenie sodu, potasu i chlorków można ocenić jedynie w krótkim czasie po pobraniu krwi. Jednak zasada ta, przy założeniu, że personel medyczny postępuje zgodnie z procedurą procesu przedanalizacyjnego nie odnosi się do wszystkich parametrów. Przeprowadzone badanie ma kilka istotnych ograniczeń. Uzyskane wyniki nie mogą być ekstrapolowane na inne parametry biochemiczne i są ograniczone tylko do systemu pobierania S-Monovette.

Wnioski

W przypadku badań wykonywanych w surowicy, przechowywanej w próbkach z aktywatorem krzepnięcia i separatorem żelowym, możliwe jest:

1. Oznaczanie stężenia sodu i chlorków w czasie do 96 godzin, od pobrania materiału do wykonania badań.
2. Oznaczanie stężenia potasu, w czasie do 96 godzin od pobrania materiału do wykonania badań w przypadku hipokaliemii i normokaliemii i do 48 godzin w hiperkaliemii.

Praca finansowana z programu finansowania badań młodych pracowników nauki i studentów studiów doktoranckich nr: 502-03/1-095-05/502-14-327

Piśmiennictwo

1. PN-EN ISO15189:2013-05. Laboratoria medyczne. Wymagania dotyczące jakości i kompetencji.
2. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 21 stycznia 2009 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych. Dz.U.09.22.128 Zał. 1
3. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 marca 2006 r. w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych, Dz.U. 2006 nr 61 poz. 434, Zał 3.
4. Bowen RA, Hortin GL, Csako G, et al. Impact of blood collection devices on clinical chemistry assays. *Clin Biochem.* 2010; 43: 4-25.
5. Zhang DJ, Elswick RK, Miller WG, et al. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clin Chem.* 1998; 44: 1325-1333.
6. Narayanan S. The preanalytic phase. An important component of laboratory medicine. *Am J Clin Pathol.* 2000; 113: 429-452.
7. Babic N, Zibrat S, Gordon IO, et al. Effect of blood collection tubes on the incidence of artifactual hyperkalemia on patient samples from an outreach clinic. *Clin Chim Acta.* 2012; 413: 1454-1458.
8. Bowen RA, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochem Med. (Zagreb)* 2014; 24: 31-44.

9. Kachhawa K, Kachhawa P, Varma M, et al. Study of the Stability of Various Biochemical Analytes in Samples Stored at Different Predefined Storage Conditions at an Accredited Laboratory of India. *J Lab Physicians.* 2017; 9: 11-15.
10. Madira WM, Wilcox AH, Barron JL. Storage of plasma in primary plasma separator tubes. *Ann Clin Biochem.* 1993; 30 (Pt 2): 213-214.
11. Lichtinghagen R. Tips and Techniques in Preanalytics, Difference between fixed-angle and swinging bucket rotors. <https://www.sarstedt.com/en/products/new-products/tips-techniques/>
12. Boyanton BL, Blick KE. Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. *Clin Chem.* 2002; 48: 2242-2247.
13. Schouwers S, Brandt I, Willemsse J, et al. Influence of separator gel in Sarstedt S-Monovette(R) serum tubes on various therapeutic drugs, hormones, and proteins. *Clin Chim Acta.* 2012; 413: 100-104.
14. Heins M, Heil W, Withold W. Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1995; 33: 231-238.

Autor do korespondencji:

dr n. med. Łukasz Kraszula
Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
II Katedra Chorób Wewnętrznych
90-153 Łódź, Kopcińskiego 22
Tel. +48 42 6776981
email: lukasz.kraszula@umed.lodz.pl

Otrzymano: 07.03.2018

Akceptacja do druku: 9.04.2018

Nie zgłoszono sprzeczności interesów