

DOI: 10.7251/VETJ1402217B

UDK 636.09:616.155.194-08

Б. Белић, М. Р. Цинцовић, Б. Тохољ, М. Стеванчевић, Б. Делић¹

Оригинални рад

УТИЦАЈ ХЕМОЛИЗЕ УЗОРАКА КРВИ МЛЕЧНИХ КРАВА НА ВРЕДНОСТ БИОХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА У УСЛОВИМА ТРАНСПОРТА НА СТАБИЛНОЈ ТЕМПЕРАТУРИ

Кратак садржај

Хемолиза узорка крви је чест проблем који настаје после узимања крви. Ослобађање хемоглобина у узорку крви мења његове колориметријске карактеристике. Присутни хемоглобин интерферира са другим биохемијским параметрима који се одређују колориметријском реакцијом. У овом раду је испитано 40 узорака крви узетих од крава у раној лактацији. У узорку 20 крава није постојала хемолиза, док су узорци 20 крава били хемолизирани. Крв је узимана венепункцијом *v.coccigea*. Сви узорци су транспортовани у стабилним температурним условима. Коришћен је хепарин као антикоагуланс. Извршена је анализа регресије и корелације између концентрације хемоглобина и вредности МСНС (који је показатељ постојања хемолизе) и биохемијских параметара крви: глукоза, NEFA, ВНВ, албумин, укупни протеини, уреа, AST, ALT, LDH, СК, билирубин, холестерол, триглицериди, Na, K, Mg, Ca. Међутим постојала је тенденција више вредности албумина, ALT, AST, и ниже вредности СК, Ca и Mg у хемолизираним узорцима. Резултати показују да нема значајне разлике између вредности биохемијских параметара у крви крава са хемолитом и у контролној групи. Није нађена значајна корелација између степена хемолизе и вредности биохемијских параметара, осим у релацијама хемоглобин:албумин, хемоглобин:СК, МСНС:ALP и МСНС:Mg. Регресиона анализа показује да се за једну јединицу хемоглобина и/или МСНС највише мења вредност глукозе, ALP, AST, ALP, СК, Mg, Ca и билирубина (за више од 20%), док су остали параметри показали мале промене, на нивоу испод 5%. Постојање хемолизе у узорку би могло да отежа анализу метаболичког профила крава, али је њен утицај минималан уколико се узорак транспортује на стабилној температури.

Кључне речи: краве, узорци крви, хемолиза, метаболички профил.

¹ Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет Нови Сад, Трг Д. Обрадовића 8, 21000 Нови Сад, Република Србија
Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Novi Sad, Trg D. Obradovica 8, Novi Sad, Republic of Serbia
Е-пошта кореспондентног аутора/ E-mail of the Corresponding Author: mcincovic@gmail.com

B. Belic, M. R. Cincovic, B. Toholj, M. Stevancevic, B. Delic

Original paper

INFLUENCE OF BLOOD SAMPLES HAEMOLYSIS OF DAIRY COWS ON BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS TRANSPORTED AT STABLE TEMPERATURE

Abstract

Hemolysis of the sample is a common problem that occurs after blood sampling. The release of hemoglobin in the blood sample changes its colorimetric properties. Present hemoglobin interferes with other biochemical parameters which are determined by colorimetric reaction. In this paper we examined 40 blood samples taken from cows in early lactation. In a sample of 20 cows was no hemolysis, while the samples of 20 cows were hemolyzed. All samples were transported in a stable temperature condition. Heparin was used as anticoagulant. Regression analysis was performed and the correlation between the hemoglobin concentration and the MCHC value (which is an indication of the existence of hemolysis) and blood parameters: glucose, NEFA, BHB, albumin, total protein, urea, AST, ALT, LDH, CK, bilirubin, cholesterol, triglycerides, Na, K, Mg, Ca. The results show that there was no significant difference between the values of the blood biochemical parameters in samples with hemolysis and control samples (there was tendency to increase of albumin, ALT and AST, ot decrease of CK, Ca and Mg in hemolised sample). There was no significant correlation between the degree of hemolysis and values of biochemical parameters (except hemoglobin:albumin and CK, MCHC:ALP and Mg). Regression analysis showed that for each unit of hemoglobin and/or MCHC there was change of glucose, AST, ALT, ALP, LDH, CK, Mg, Ca and bilirubin concentration (for more than 20%) , while the other parameters showed slight changes at the level below 5%. The hemolysis in the sample could complicate the analysis of the metabolic profile of cows, but its effect is minimal if the sample is transported in a stable temperature.

Key words: cows, blood sample, hemolysis, metabolic profile.

УВОД / INTRODUCTION

Хемолиза узорка узете крви представља један од најзначајнијих преаналитичких фактора које је неопходно узети у обзир приликом обраде узорка и тумачења добијеног резултата (Белић и Цинцовић 2012). Она може настати као

последица различитих фактора који се односе на животињу (инфекције, тровања, поремећаји метаболизма), технику флеботомије, транспорт (температура, дужина транспорта), центрифугирање у лабораторији и чување (Lippi и сар. 2008).

Приликом хемоллизе ослобађа се хемоглобин, који значајно интерферира са другим биохемијским показатељима, тако да ствара системску грешку приликом мерења, што резултује девијацијом измерених података у односу на праве вредности. Ово је дефиниција коју даје Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC).

Циљ овог рада је да се испита у којој мери хемоллиза узорка може утицати на биохемијски профил крва у раној лактацији, ако се крв транспортује на стабилној температури и веома брзо се изврши лабораторијска анализа.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ / MATERIAL AND METHODS

У овом раду је испитано 40 узорка крви узетих од крава у раној лактацији. У узорку 20 крава није постојала хемоллиза, док су узорци 20 крава били хемолизирани. Крв је узимана венепункцијом *v.coccigea*. Као критеријум за хемолизу узета је концентрација слободног хемоглобина изнад горње референтне вредности ($>15\text{g/dL}$), исто је учињено и за МСНС ($>36\text{g/dL}$). Сви узорци су транспортовани у стабилним температурним условима. Коришћен је хепарин као антикоагуланс. Комплетна лабораторијска анализа је извршена у периоду неколико сати од момента узимања крви.

Хематолошке анализе су извршене помоћу анализатора HEMAVET950. Концентрација метаболита у крви (глукоза, NEFA, BHB, албумин, укупни протеини, уреа, AST, ALT, LDH, СК, билирубин, холестерол, триглицериди,

Na, K, Mg, Ca), одређена је стандардним колориметријским методама (Randox, UK) и на апарату Rayto.

Кад је у питању статистичка анализа, у првом кораку испитана је значајност разлике концентрације метаболита у узорцима који су били хемолизирани и који нису хемолизирани. Коришћен је Студентов т-тест (непараметарске вредности су логаритмоване, како би се за све метаболите користила параметарска статистика). Потом је извршена анализа регресије и корелације (Пирсонов коефицијент корелације) између концентрације хемоглобина и МСНС и биохемијских параметара крви, како би се утврдио степен промене концентрације метаболита у функцији вредности хемоглобина и МСНС.

РЕЗУЛТАТИ / RESULTS

У узорцима крви добијеним од крава код којих је утврђено постојање хемоллизе није нађена значајна разлика у концентрацији метаболита у односу на контролне узорке без хемоллизе. Међутим постојала је тенденција више вредности албумина, ALT, AST, и ниже вредности СК, Са и Mg у хемолизираним узорцима. Резултати су приказани у табели 1.

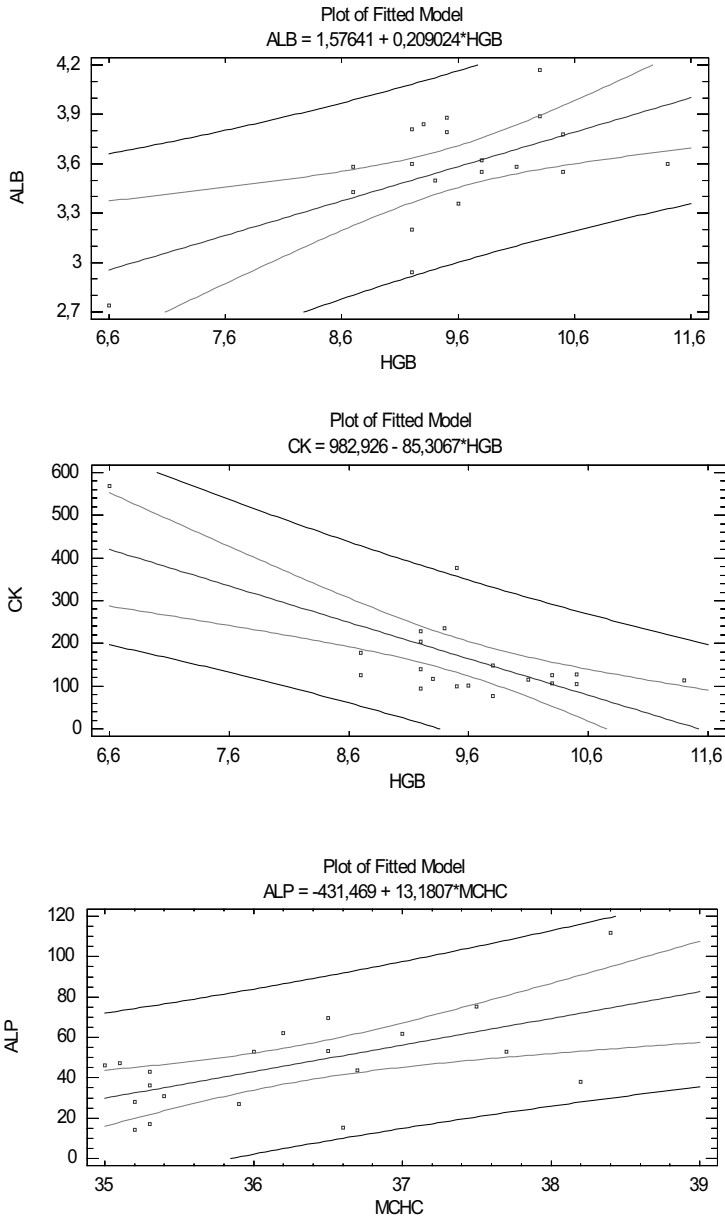
Испитивањем линеарне зависности између концентрације хемоглобина и МСНС и метаболичких параметара нађено је да нема статистички значајне линеарне повезаности, осим у релацијама хемоглобин:албумин, хемоглобин:СК, МСНС:ALP и МСНС:Mg. Резултати са означеном регресионом линијом и линеарном формулом при-

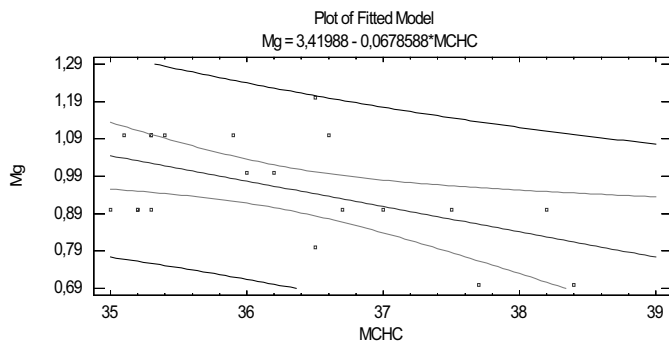
казани су на графиконима 1–4. Регресиона анализа показује да се за једну јединицу хемоглобина и/или МСНС највише мења вредност глукозе, АЛР, АСТ, АЛР, СК, Мг, Са и билирубина (за више од 20%), док су остали параметри показали мале промене, на нивоу испод 5%.

Табела 1. Концентрација метаболита у узорцима са знацима хемоллизе и контролним узорцима

Метаболити	Узорак са хемоллизом	Контрола без хемоллизе	p
Глукоза mmol/l	2,87±0,4	2,7±0,35	NS
NEFA mmol/l	0,45±0,15	0,51±0,12	NS
ВНВ mmol/l	0,79±0,22	0,7±0,28	NS
Албумини g/dL	3,77±0,25	3,57±0,3	p<0,1
Укупни прот. g/dL	7,6±0,59	7,8±0,6	NS
Уреа mmol/l	4,48±1,05	4,5±1,2	NS
AST IU/l	95,87±9,19	89,86±10,46	p<0,1
ALT IU/l	29,5±3,11	27,03±3,82	p<0,1
LDH IU/l	2259,35±138,8	2200,7±150,1	NS
СК IU/l	113±82,1	169,1±116,83	p<0,1
ALP IU/l	46,2±23,3	591, ±24,6	NS
Билирубин μmol/l	11,51±7,72	13,5±5,59	NS
Холестерол mg/dL	102,62±17,05	100,2±14,4	NS
Триглицериди mg/dL	20,66±16,16	25,5±17,7	NS
Na mmol/l	137,2±2,88	138,1±3,1	NS
K mmol/l	4,72±0,6	4,51±0,5	NS
Mg mmol/l	0,87±0,1	0,96±0,14	p<0,1
Ca mmol/l	2,11±0,09	2,29±0,16	p<0,1

Графикони 1–4: Статистички значајна линеарна повезаност вредности хемоглобина (HGB) и средње концентрације хемоглобина у еритроцитима (MCHC) са метаболичким параметрима





ДИСКУСИЈА / DISCUSSION

Постојање хемоллизе је велики проблем приликом колориметријског одређивања биохемијских параметара у крви због постојања интерференције. Интерференција може настати као последица дилуционог ефекта ослобођеног садржаја из еритроцита, затим као последица хемијске интерференције слободног хемоглобина са биохемијским параметрима и реагенсима и, на крају, могућа је и интерференција приликом мерења односно пропуштања кроз узорак таласа одређене таласне дужине које хемоглобин лако апсорбује (Guder 1986, Sonntag 1986, Jay и Proveasek 1993, Kroll и Elin 1994, Grafmeyer 1995, Steen и сар. 1996). Поред наведеног, еритроцити садрже многе друге компоненте које ослобађањем могу правити интерференције (Guder 1986).

Хемоллиза значајно може утицати на измерене вредности великог броја биохемијских параметара (Lippi и сар. 2008). Анђелић и сар. (2013) су пока-

зали да хемоллиза доводи до значајно веће концентрације AST, ALT, CK, LDH и K у узорцима, док гликемија опада. До сличних резултата су дошли Lippi и сар. (2006).

Иако је хемоллиза значајан фактор који утиче на вредности биохемијских параметара у крви, постоје резултати коју указују да степен хемоллизе (која се огледа у концентрацији слободног хемоглобина) не корелира са степеном девијације у вредности појединих параметара. Тако се промена у концентрацији ензима и калијума превасходно тумачи дилуционим ефектом и изласком садржаја из еритроцита (Lippi и сар. 2006). Ови резултати су компаративни и са нашим резултатима, у којима нисмо нашли значајну корелацију између концентрације хемоглобина и већине биохемијских параметара.

ЗАКЉУЧАК / CONCLUSION

Када се узорци транспортују у условима стабилне температуре и када се веома брзо по узорковању заврше

лабораторијске анализе, не постоји значајна разлика у концентрацији метаболита у хемолизираној крви и крви без хемоллизе. Ипак, постојање појединих линеарних веза и тенденција ка промени концентрације метаболита у хемолизираном узорку доводе до закључка да би постојање хемоллизе у узорку могло да отежа анализу метаболичког профила крва, али је њен утицај минималан уколико се узорак транспортује на стабилној температури и ако се добијени узорци брзо обраде у лабораторији.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Anđelić, T., Lazić Vasić, M., Đurašinić, T. (2013): *Uticaј hemolize na biohemijska ispitivanja*. Medicinska revija, 5, 2, 183–185.
2. Belić, B., Cincović, M. R. (2012): *Praktikum iz patološke fiziologije*. Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
3. Grafmeyer, D., Bondon, M., Manchon, M., Levillain, P. (1995): *The influence of bilirubin, haemolysis and turbidity on 20 analytical tests performed on automatic analysers. Results of an interlaboratory study*. Eur J Clin Chem Clin Biochem, 33, 31–52.
4. Guder, W. (1986): *Haemolysis as an influence and interference factor in clinical chemistry*. J Clin Chem Clin Biochem, 24, 125–126.
5. Jay, D., Provasek, D. (1993): *Characterization and mathematical correction of hemolysis interference in selected Hitachi 717 assays*. Clin Chem, 39, 1804–1810.
6. Kroll, M. H., Elin, R. J. (1994): *Interference with clinical laboratory analyses*. Clin Chem, 40, 1996–2005.
7. Lippi, G., Salvagno, G. L., Montagnana, M., Brocco, G., Guidi, G. C. (2006): *Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing*. Clin Chem Lab Med, 44, 311–316.
8. Lippi, G., Blanckaert, N., Bonini, P., Green, S., Kitchen, S., Palicka, V., Vassault, A. J., Plebani, M. (2008): *Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories*. Clin Chem Lab Med, 46, 764–772.
9. Sonntag, O. (1986): *Haemolysis as an interference factor in clinical chemistry*. J Clin Chem Clin Biochem, 24, 127–139.
10. Steen, G., Vermeer, H. J., Naus, A. J., Goevaerts, B., Agricola, P. T., Schoenmakers, C. H. (2006): *Multicenter evaluation of the interference of hemoglobin, bilirubin and lipids on Synchron LX-20 assays*. Clin Chem Lab Med, 44, 413–419.