

# Hemoliza - uzrok laboratorijskih pogrešaka

---

**Burić, Eni**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Pula / Sveučilište Jurja Dobrile u Puli**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:137:225228>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-15**



*Repository / Repozitorij:*

[Digital Repository Juraj Dobrila University of Pula](#)



**SVEUČILIŠTE JURJA DOBRILE U PULI**

**MEDICINSKI FAKULTET PULA**

Preddiplomski stručni studij Sestrinstvo

**ENI BURIĆ**

**HEMOLIZA – UZROK LABORATORIJSKIH POGREŠAKA**

Završni rad

Pula, rujan 2022.

**SVEUČILIŠTE JURJA DOBRILE U PULI**

**MEDICINSKI FAKULTET PULA**

Preddiplomski stručni studij Sestrinstvo

**ENI BURIĆ**

**HEMOLIZA – UZROK LABORATORIJSKIH POGREŠAKA**

Završni rad

**JMBAG: 0303091062**, izvanredni student

**Studijski smjer:** Preddiplomski stručni studij Sestrinstvo

**Kolegij:** Osnove medicinske kemije i biokemije

**Znanstveno područje:** Biomedicina i zdravstvo

**Znanstveno polje:** Kliničke medicinske znanosti

**Znanstvena grana:** Sestrinstvo

**Mentor:** doc.dr.sc. Lorena Honović, mag.med.biochem., spec.med.biokemije

Pula, rujan 2022.



## IZJAVA

### o akademskoj čestitosti

Ja, dolje potpisana Eni Burić, kandidatkinja za prvostupnika sestrinstva ovime izjavljujem da je ovaj završni rad rezultat isključivo mogega vlastitog rada, da se temelji na mojim istraživanjima te da se oslanja na objavljenu literaturu kao što to pokazuju korištene bilješke i bibliografija. Izjavljujem da niti jedan dio završnog rada nije napisan na nedozvoljen način, odnosno da je prepisan iz kojega necitiranog rada, te da ikoji dio rada krši bilo čija autorska prava. Izjavljujem, također, da nijedan dio rada nije iskorišten za koji drugi rad pri bilo kojoj drugoj visokoškolskoj, znanstvenoj ili radnoj ustanovi.

U Puli, .....2022. godine

Studentica

---



## IZJAVA

### o korištenju autorskog djela

Ja, Eni Burić, dajem odobrenje Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli, kao nositelju prava iskorištavanja, da moj završni rad pod nazivom „Hemoliza – uzrok laboratorijskih pogrešaka“ koristi tako da gore navedeno autorsko djelo, kao cjeloviti tekst trajno objavi u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice Sveučilišta Jurja Dobrile u Puli te kopira u javnu internetsku bazu završnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice (stavljanje na raspolaganje javnosti), sve u skladu sa Zakonom o autorskom pravu i drugim srodnim pravima i dobrom akademskom praksom, a radi promicanja otvorenoga, slobodnoga pristupa znanstvenim informacijama.

Za korištenje autorskog djela na gore navedeni način ne potražujem naknadu.

U Puli, .....2022. godine

Studentica

---

## ZAHVALE

Moje zahvale predavačima, mentorima i svim djelatnicima Medicinskog fakulteta u Puli, smjer Sestrinstvo, s kojima sam se imala prilike susreti tijekom svog studiranja, na pruženoj pomoći, podršci, znanju i razumijevanju.

Posebno bi se željela zahvaliti mentorici u izradi završnog rada, doc.dr.sc. Loreni Honović na pruženoj podršci, vremenu, trudu i strpljenju te vođenju i savjetovanju tijekom pisanja završnog rada.

Najljepše se zahvaljujem svojoj obitelji, roditeljima Vesni i Mauriciu, mlađoj sestri Paoli koji su me iz dana u dan poticali i ohrabivali da budem ustrajna u ostvarenju svojih ciljeva i ne odustajem. Bez njihove podrške i odricanja ne bih stigla do ovog trenutka.

Veliko hvala i mojim radnim kolegama, timu Objedinjenog hitnog prijema OB Pula na čelu s glavnim s glavnim tehničarom Draženom Burazorom, koji su uvijek imali razumijevanja za mene, izlazili mi u susret i pomagali koliko je god to bilo u njihovoj moći.

Hvala i svim mojim kolegama na studiju Sestrinstva koji su uvijek bili spremni pomoći, te svojom vedrinom i potporom olakšali i uljepšali ovo razdoblje mog života.

## **POPIS KRATICA**

CLIA- engl. Clinical Laboratory Improvement Amendments

HKMS- Hrvatska komora medicinskih sestara

KKS- kompletna krvna slika

G20, G21- debljina igle

HKMB- Hrvatska komora medicinskih biokemičara

KS- krvna slika

ABS- acidobazni status

CDC- engl. Centers for disease control and prevention

OB- opća bolnica

JASP- engl. Jeffreys's Amazing Statistics Program

## SADRŽAJ

<b>1.</b>	<b>UVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2.</b>	<b>OBRADA TEME</b> .....	<b>9</b>
	2.1. Izvori pogrešaka .....	9
	2.2. Interferencije u laboratorijskim mjerenjima.....	10
	2.3. Uzroci hemolize.....	12
	2.4. Procjena hemolize .....	14
	2.5. Utjecaj hemolize na laboratorijska mjerenja i provođenje zdravstvene skrbi .....	15
	2.6. Preporuke za uzorkovanje laboratorijskih uzoraka.....	18
	2.7. Preporuke za postupanje s krvlju nakon uzrokovanja .....	22
	2.8. Anketno istraživanje „Hemoliza - uzrok laboratorijskih pogrešaka“ .....	23
	2.9. Prikaz anketnog istraživanja.....	23
	2.10. Rezultati anketnog istraživanja .....	25
	2.11. Učestalost hemoliziranih uzoraka na objedinjenom hitnom prijemu .....	28
<b>3.</b>	<b>RASPRAVA</b> .....	<b>29</b>
<b>4.</b>	<b>ZAKLJUČAK</b> .....	<b>33</b>
<b>5.</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>34</b>
<b>6.</b>	<b>SAŽETAK</b> .....	<b>36</b>
<b>7.</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>37</b>
<b>8.</b>	<b>POPIS SLIKA I TABLICA</b> .....	<b>38</b>



## 1. UVOD

Mjesta najučestalijeg uzorkovanja krvi i potrebe za laboratorijskim nalazima svakako su hitni prijemi bolnica. Zbog učestalosti uzorkovanja krvi ali i smjenskih promjena zaposlenika, objedinjeni hitni prijemu jesu mjesta na kojima se često izvješćuje o hemoliziranosti uzorka i nemogućnosti izdavanja pojedinih traženih laboratorijskih rezultata. Prisutnost hemolize višestruko negativno djeluje na pružanje zdravstvene skrbi te povećava vrijeme samog čekanja na pregled, dospijeće laboratorijskih nalaza, otpust pacijenata. Sve to može uzrokovati frustracije kako pacijenta, tako i zdravstvenih djelatnika. Pravovremeno dobivanje laboratorijskih nalaza kod hitnih stanja može utjecati na sam ishod stanja i bolesti, jer se traženje pojedine terapije odgađa do dospijeća laboratorijskih nalaza određenog parametra (npr. vrijednosti kalija).

Pojmom hemolize (grč. hemo-krvni, lizis-raspad, razgradnja, destrukcija) označava se biokemijski proces u kojem dolazi do razgradnje eritrocita (crvenih krvnih stanica) i oslobađanja hemoglobina. Hemoglobin je sastavni dio eritrocita i oslobađanjem iz stanice boji serum crvenkasto. (Ricos i sur., 2004.)

Hemoliziran uzorak se uglavnom lako prepoznaje jer već koncentracija od 0,3 grama po litri oslobođenog hemoglobina dovodi do promjene boje seruma ili plazme. (Dodig, 2009.)

Proces izdavanja laboratorijskih nalaza se dijeli na tri zasebne faze; predanalitičku fazu (faza uzorkovanja krvi, postupanja s uzorkom i dostave uzorka na lokaciju), analitičku fazu (analiza uzorka u laboratoriju) te postanalitičku fazu (interpretacija dobivenih rezultata, validacija, izdavanje laboratorijskih nalaza). Svaka od navedenih faza laboratorijske dijagnostike može potencijalno biti izvor greške s posljedičnim razvojem hemolize. (Šimundić, 2010.)

Hemoliza je jedna od najčešćih predanalitičkih pogrešaka. Uglavnom nastaje kao posljedica nepravilnog uzorkovanja i postupanja s uzorkom krvi, pri čemu ima veliki utjecaj na kvalitetu, brzinu i objektivnost laboratorijskih nalaza. Istraživanja pokazuju da od svih dostavljenih uzorka njih čak 60% bude neprihvaćeno za daljnju laboratorijsku obradu. (Ricos i sur., 2004.)

## 2. OBRADA TEME

### 2.1. Izvori pogrešaka

Pogreške u predanalitičkoj fazi laboratorijskog procesa su vrlo česte i njihov udio je između 50 i 70% svih laboratorijskih pogrešaka. (Dimeski, 2008.)

Najčešće se javljaju kao pogreška zamjene uzorka zbog nepravilne identifikacije pacijenta, neprovođenja identifikacije pri svakom ponovnom kontaktu s pacijentom i prisutnosti različitih interferencija. Veliki dio otpada na nepravilno uzimanje krvnih uzorka za laboratorijsku dijagnostiku, postupak rukovanja s epruvetama, nepravilnu pripremu pacijenta za određenu dijagnostičku pretragu, nesuradljivost pacijenta. U tu skupinu pogrešaka spada i nepravilan, nepravovremen transport uzorka na lokaciju laboratorija, nepravilno postupanje s uzorkom, čuvanje uzorka do transporta (neprikladni mikroklimatski uvjeti i spremnici za čuvanje krvi). Poseban dio jesu pogreške povezane uz gubitak i nedostatak uputnice za pretrage, nepravilno označene pretrage, neispravno zadavanje pretraga. (Šimundić i sur., 2010.)

Pogreške u analitičkoj fazi podrazumijevaju ljudske pogreške u rukovanju s analitičkim sustavima (nepravilno postupanje s laboratorijskim aparatima, postupanje nesukladno uputama proizvođača, nepravilno postupanje s uzorkom, neprovođenje redovnog testiranja efikasnosti aparature), kompjutorske pogreške (neispravnost aparature, neredovite kontrole, validacije uređaja, greške u napajanju, ostali faktori vezani uz laboratorijske instrumente, računalnu aparaturu).

Pogreške u postanalitičkoj fazi odnose se na pogrešnu interpretaciju dobivenih rezultata, grešku zamjene dobivenih rezultata (nepravilna identifikacija, zamjena uzoraka), neprovjeravanje vrijednosti koje odstupaju od očekivanih intervala.

Ako se pravovremeno uoče sve ranije navedene pogreške, moguće je zaustaviti izdavanje laboratorijskih nalaza i ponoviti fazu laboratorijske dijagnostike u kojoj je došlo do nastanka pogreške. Takvo ponavljanje za posljedicu ima dodatno utrošeno vrijeme i odgađanje procesa liječenja. Ako se navedene pogreške ne uoče pravovremeno i ne ponovi se određena faza u kojoj je došlo do nastanka pogreške, moguće je izdavanje krivih i netočnih nalaza. Netočni nalazi mogu dovesti do i pogrešne medicinske odluke, pružanja neadekvatnih terapijskih postupaka koji mogu

rezultirati lošijim ishodom, kritičnim pogoršanjem pacijentovog stanja te profesionalnom krivicom zdravstvenih djelatnika koji su sudjelovali u procesu laboratorijske dijagnostike. (Šimundić i sur., 2010.)

## 2.2. Interferencije u laboratorijskim mjerenjima

Interferencija se definira kao utjecaj supstance prisutne u analitičkom sustavu koja uzrokuje devijaciju izmjerene vrijednosti od prave vrijednosti koja se obično iskazuje kao koncentracija ili aktivnost. Prema IFCC-u analitička interferencija je sistematska pogreška mjerenja uzrokovana komponentama uzorka koje same po sebi ne daju signal u mjernom sustavu. Interferencije mogu zavisiti od uzorka ili biti nezavisne od uzorka, mogu biti pozitivne ili negativne, odnosno utjecati na povećanje ili snižavanje rezultata. Pri tome pozitivna interferencija javlja se obično kao rezultat nedostatne specifičnosti metoda. Najčešće se na prisutnost interferencija sumnja pri određivanju i upotrebi imunokemijskih metoda kada se dobije neprihvatljiv rezultat.

Ovisno o izvoru, interferencije mogu biti egzogene i endogene interferencije. Egzogene potječu od vrste metodologije i opreme koja se koristi pri određivanju nekog analita. Najznačajniji primjeri egzogenih interferencija pri određivanju analita imunokemijskim metodama jesu prijenos uzorka (engl. Carry over), zagađenje uzorka, vrsta upotrebljenih epruveta, utjecaj radioaktivnih komponenti pri izotopskom obilježavanju, prozonski učinak (engl. hook effect). Posljedice svih ovih interferencija izraženije su u uzorcima s povišenim koncentracijama mjenog analita, a mogu se izbjeći pažljivim longitudinalnim praćenjem koncentracija mjenog analita, automatizacijom svih dijelova procesa određivanja analita, primjenom napomena proizvođača reagensa u svakodnevnom radu. Osim ranije spomenutih, česte egzogene interferencije u laboratorijskoj dijagnostici dolaze od supstance uvedene izvana u uzorak krvi poput lijekova (osnovna komponenta lijeka, produkti metabolizma lijeka, aditivi), otrova, biljne supstance, intravenozne otopine (terapija infuzijskim otopinama), razne supstance koje se koriste u liječenju bolesnika i terapijskim postupcima.

Osim direktnim unosom u cirkulaciju pacijenta, egzogeni faktori mogu proizlaziti od epruveta koje se koriste za uzrokovanje krvi. Stoga je važna provjera ispravnosti,

kvalitete i vremena trajanja epruvete. Osim toga, dodatne interferencije mogu nastati tijekom procesa uzrokovanja krvi, čuvanja uzorka do trenutka analiziranja, transporta uzorka do laboratorija, centrifugiranja. Interferencije također mogu biti posljedica postojanja ugruška u uzorku ili zagađenja uzorka nepravilnim postupanjem i uzrokovanjem. (WHO, 2010.)

Endogene interferencije potječu od karakteristika samog uzorka i najčešće se iskazuju pojavom križne reakcije s endogenim i egzogenim supstancama koje nemaju strukturu antitijela, onih koje imaju strukturu antitijela, i utjecajem matriksa-odnosno interferencija svih sastavnica uzorka (lipidi, ugljikohidrati, proteini, soli, voda). Ova vrsta interferencija ovisna je o specifičnosti antitijela, obliku testa i pripremi uzorka. Podjednako mogu uzrokovati lažno povećane i lažno smanjene vrijednosti ispitivanog analita. Endogeni uzročnici interferencija u laboratorijskoj dijagnostici dolaze od supstance fiziološki prisutne u uzorku krvi čija je koncentracija promijenjena, uvećana ili smanjena kao posljedica općeg zdravstvenog stanja pacijenta.

Utjecajem interferencija supstanci koje imaju strukturu antitijela obuhvaćena su djelovanja egzogenih i endogenih antitijela iz biološkog uzorka, pri čemu osobitu pažnju treba posvetiti postojanju dvije vrste endogenih antitijela. To su heterofilna antitijela (prirodna antitijela i autoantitijela) i anti-animalna antitijela (najpoznatija su humana anti-mišja antitijela, HAMA). Mehanizam djelovanja im je isti, a svojstveno im je istodobno stvaranje kompleksa s primarnim i obilježenim antitijelima, pri čemu se kao posljedica javljaju lažno povišene vrijednosti. (Dodig S, 2009.)

S učinkom interferencije se često susrećemo u laboratorijskoj dijagnostici pri čemu, razne supstance krvnog uzorka mogu u određenoj, većoj ili manjoj mjeri utjecati na dijagnostičke rezultate povećavajući ili smanjujući određene vrijednosti rezultata. Ako se interferencije ne prepoznaju na vrijeme mogu posljedično dovesti do nepotrebnog daljnjeg testiranja, netočnog rezultata, dijagnoze s potencijalno lošim ishodom pa onda postaju laboratorijske pogreške. (WHO, 2011.)

Osim podjele interferencija prema izvoru uzroka, dodatno ih možemo podijeliti na interferencije na koje možemo utjecati i interferencije na koje ne možemo utjecati. Takva podjela ima veću važnost u procesu prevencije i rane dijagnoze hemolize.

Na najčešće interferencije, one nastale u predanalitičkoj fazi, poput uzrokovanja nesukladno smjericama HKMS-a, neadekvatnog skladištenja i transporta uzorka

možemo utjecati otklanjanjem uzroka interferencije ili zamjenom uzorka novim uzorkom u kojem nije došlo do interferencije.

Poseban problem pri procjeni i izradi laboratorijskih nalaza predstavljaju najpoznatije interferencije hemoliza, lipemija i hiperbilirubinemija. Nalaz u kojem stoji upućivanje na jednu od spomenutih interferencija odstupa od općeg stanja i kliničkog statusa pacijenta. Takvi nalazi tumače se s dodatnim oprezom i obično je nalaz kao takav indikator za potrebu ponovnog uzrokovanja i ponavljanje laboratorijske analize uzorka. Zato je važno, svaku moguću interferenciju dopisati u završni laboratorijski nalaz, te o tome obavijestiti liječnike koji su zatražili određenu pretragu. (Šimundić, 2010.)

### 2.3. Uzroci hemolize

Prema mjestu nastanka razlikujemo hemolizu *in vivo* te *in vitro*. Hemoliza uzorka *in vitro* nastaje kao posljedica profesionalnih pogrešaka zdravstvenih djelatnika u radu s uzorcima krvi, direktno pri samom uzimanju uzorka ili pri obradi uzrokovane krvi. Hemolizu izaziva pretjerano povlačenje klipa šprice za uzrokovanje kod uzimanja uzorka, naglo istiskivanje krvi kroz iglu i špricu u epruvetu, produženo vrijeme venepunkcije, kontaminacija uzorka sredstvima koje koristimo za dezinfekciju kože prije uzrokovanja, snažno protresanje epruvete, temperatura skladištenja uzorka neprilagođena uputama proizvođača epruveta, nepridržavanje smjernica o, uzrokovanju krvi, uzorkovanje na mjestu primjene infuzijske otopine

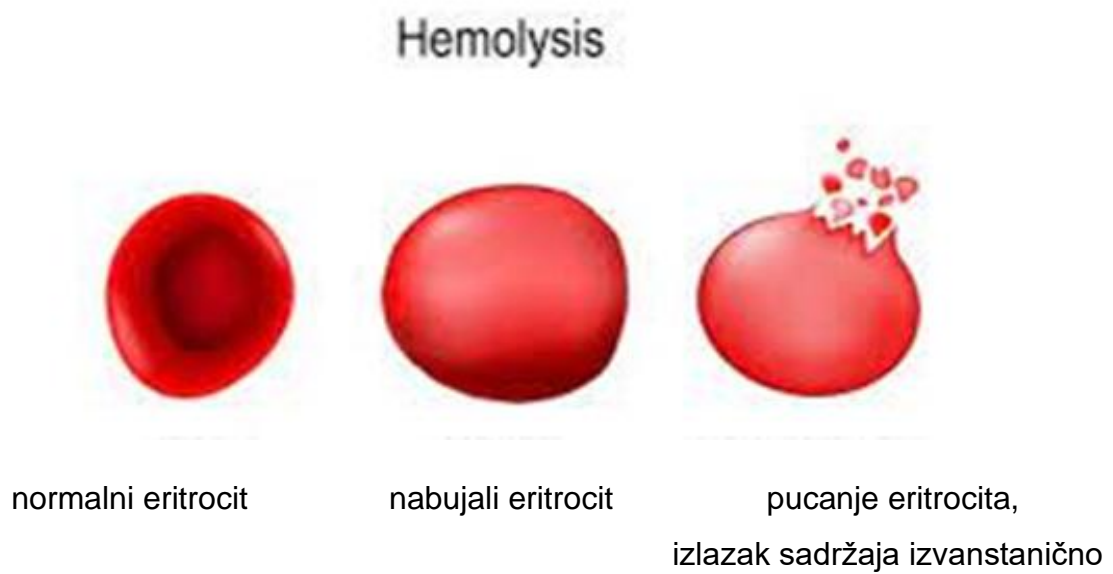
Pojmom *in vivo* hemolize obuhvaćena su različita patološka stanja, bolesti poremećaja eritrocita, imunosne reakcije, djelovanje različitih mehaničkih faktora čija je posljedica raspad, oštećenje eritrocita. (Dodig, 2009.)

Naime, hemoliza eritrocita se događa i fiziološki i tada predstavlja prirodan način izumiranja i razgradnje starih i funkcionalno oštećenih eritrocita. *In vivo* hemoliza prisutna je u tijelu pojedinca dok uzorak još nije uzet. Ovisno o tome gdje se *in vivo* događa raspad crvenih krvnih stanica, razlikujemo intravaskularnu i ekstravaskularnu hemolizu.

Hemolizu je moguće izazvati i djelovanjem različitih kemijskih sredstvima poput etera, i kloroforma. Također, mogu je izazvati izrazito niske ili visoke temperature, ali i

djelovanje destilirane vode (hipotonična otopina) pri čemu eritrociti bubre i pucaju. (slika 1). Naime, normalni eritrociti su do izvjesne mjere otporni na djelovanje hipotoničnih otopina, pa se to svojstvo koristi pri određivanju njihove osmotske rezistencije.

Slika 1. Stupnjevi razgradnje eritrocita

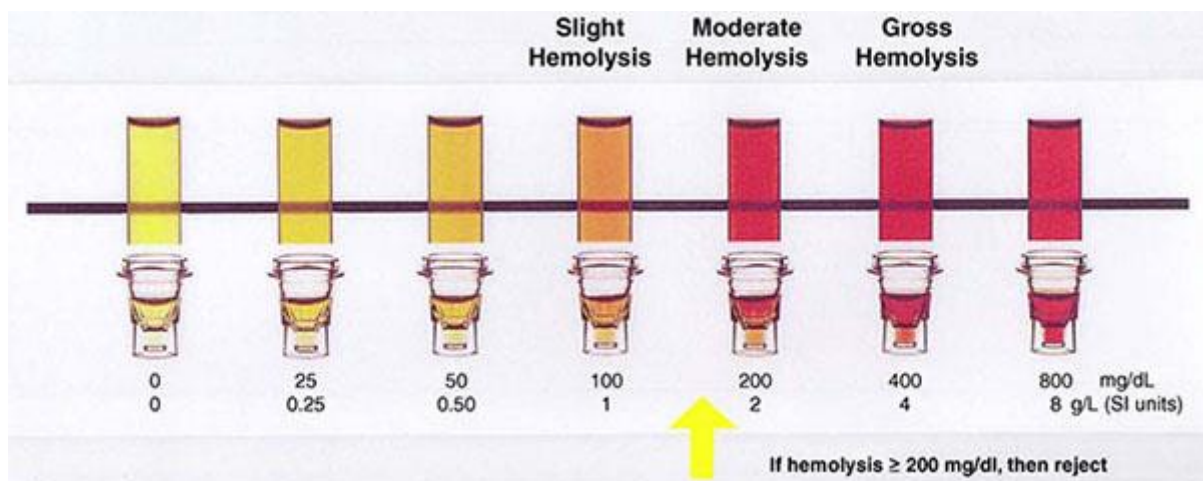


Izvor: <https://www.shutterstock.com/search/hemolysis>

## 2.4. Procjena hemolize

Hemolizirani uzorak nije prihvatljiv za analizu i izdavanje nalaza određenog parametra. Pri svakodnevnom radu, u laboratorijskoj praksi, uglavnom se vrši primarna selekcija hemoliziranih uzoraka od ostalih na temelju vizualne procjene (slika 2). Pri tome sama procjena hemoliziranosti je individualna i ovisna je o procjeni osobe koja prihvaća uzorak za laboratorijsku obradu. Laboratorijski stručnjak procjenjuje dobiveni uzorak i mogućnost utjecaja hemolize na sam ishod laboratorijske analize. Na vizualnu procjenu dodatno mogu utjecati ostale interferencije koje mogu biti prisutne u uzorku kao što je npr. povišena koncentracija bilirubina kod neonatološkog ikterusa.

Slika 2. Vizualno stupnjevanje hemolize seruma



Izvor: [https://www.healthcare.uiowa.edu/path\\_handbook/Appendix/Heme/hemolysis\\_chart.html](https://www.healthcare.uiowa.edu/path_handbook/Appendix/Heme/hemolysis_chart.html)

No, kako je vizualna procjena uglavnom subjektivna, osobito za područja slabije hemolize, danas se u laboratorijima koriste automatizirani sustavi procjene najznačajnijih laboratorijskih interferencija (hemoliza, bilirubinemija, lipemija), određivanjem tzv. HIL parametara. Takav način određivanja interferencija predstavlja određenu razinu standardizacije procjene kvalitete uzoraka. Osim toga, današnji

laboratorijski informatički sustavi mogu rezultate procjene HIL indeksa uključiti u algoritme automatske validacije što ubrzava rutinski rad i olakšava odluku o izdavanju ili neizdavanju rezultata. (Lippi i Cadamuro, 2018.)

Lakše hemoliziraju kapilarni uzorci krvi, arterijski uzorci acidobaznog statusa, neonatološki, pedijatrijski uzorci KKS-a (kompletna krvna slika), te uzorci koji su zatraženi, žurnije zbog akutno lošeg stanja bolesnika. (Guder i sur., 2003.)

Navod potvrđuju brojne studije u kojima se promatrala učestalost nastanka hemolize u uzorcima različitih bolničkih odjela. Učestalost hemolize uglavnom je različita pri različitim populacijama pacijenata. Najviše je ovisna o stručnjaku koji obavlja uzorkovanje krvi. Isto tako, veliku učestalost hemolize bilježi se na odjelima hitnog bolničkog prijema, dječjim i neonatološkim odjelima, jedinicama intenzivne skrbi. Uzorkovanje na tim odjelima provode medicinske sestre, a pacijenti imaju zdravstvene i konstitucijske specifičnosti koje otežavaju otežano uzorkovanje krvi. Najmanja učestalost hemolize zabilježena je u medicinsko biokemijskim laboratorijima gdje krv uzima educirano laboratorijsko osoblje. (Lippi i sur., 2009.)

## 2.5. Utjecaj hemolize na laboratorijska mjerenja i provođenje zdravstvene skrbi

Neovisno koje je podrijetlo hemolize, postoji više četiri skupine mehanizama kojima hemoliza utječe na netočnost konačnih laboratorijskih rezultata a time i na sam proces provođenja zdravstvene skrbi. To su : spektrofotometrijski utjecaji, oslobađanje staničnih sastojaka u uzorak, razrjeđenje uzorka i kemijski utjecaji. Stupanj interferencije ovisi o stupnju hemolize te o korištenoj metodi i analizatoru jer kod nekih metoda hemoliza značajno utječe na rezultat dok kod drugih ne utječe uopće.

Spektrofotometrijski mehanizam utjecaja na točnost laboratorijskih nalaza ovisan je o apsorbanciji hemoglobina oslobođenog iz eritrocita na različitim valnim duljinama. Pri tome mijenja se rezultat onih analita koji se određuju spektrofotometrijskim metodama. Na valnim duljinama od 415, 540 i 570 nm hemoglobin pokazuje najveću apsorbanciju dok oksihemoglobin pokazuje najveću apsorbanciju između 531 i 543 nm. (Šimundić i sur., 2019.) Zato utjecaj na rezultate ovisi o tome na kojim se valnim duljinama mjeri apsorbancija nekog analita. Ako se koriste metode mjerenja apsorbancija za neki analit



na valnim duljinama apsorpcije hemoglobina, ovisno o stupnju hemolize, može doći do lažno povišenih rezultata za taj analit.

Drugi mehanizam utjecaja hemolize je interferencija hemolize oslobađanjem staničnih sastojaka. Kako u stanici nalazimo različiti sadržaj od onog izvan stanice, njenom razgradnjom, oslobađaju se sastojci koji mogu dovesti do interferencije i lažno povišenih rezultata mjerenja. To je osobito izraženo kod onih analita koji se u stanici nalaze u puno većoj koncentraciji nego izvan stanice. Za one analite kojih u stanici ima značajno više, već će i manji stupanj hemolize imati veliku interferenciju. To se osobito odnosi na laktat-dehidrogenazu, anorganski fosfat, kalij, aspartat-aminotransferaze i folnu kiselinu. (Šimundić i sur., 2019.)

Utjecaj hemolize uočavaju se kod određivanja vrijednosti neuron-specifične enolaze, gdje i najmanji trag hemolize uzrokuje netočan rezultat. Također, hemoliza dovodi do interferencije kod određivanja alanin-aminotransferaze, bilirubina, kreatinina, ureje, lipaze i magnezija, kao i kod određivanja ukupne koncentracije proteina u serumu te izrade elektroforeze serumskih proteina.

Neki analiti se u plazmi i serumu nalaze u većoj koncentraciji nego u stanici zbog čega pri velikom stupnju hemolize može doći i do efekta razrjeđenja uzorka. Tada njihova koncentracija može biti prividno snižena. To su albumin, bilirubin, glukoza i natrij. Ovaj mehanizam interferencije ipak je manje značajan a njegov efekt vidljiv je tek kod velikog stupnja hemolize kada koncentracija slobodnog hemoglobina u plazmi ili serumu iznosi više od 3 g/L. (Palić, 2020.)

Kemijski mehanizam utjecaja hemolize prati se putem interferencije slobodnog hemoglobina. Hemoglobin interferira s komponentama kemijske reakcije direktnim mehanizmom mijenjajući formiranje produkta reakcije zbog svoje pseudo-peroksidazne aktivnosti (npr. inhibiranje reakcije, kompeticija za supstrat). Indirektnim mehanizmom različite komponente krvnih stanica oslobođene prilikom hemolize mogu utjecati na postupak mjerenja analita izravnim ili neizravnim nadmetanjem za molekule u reagensima, inhibiranjem indikatorskih reakcija te modificiranjem analita složenošću, proteolizom ili precipitacijom. Vrlo često više gore objašnjenih mehanizama u kombinaciji dovode do interferencije hemolize kod određivanja analita. (Šimundić i sur., 2019.)

Objedinjujući sve načine djelovanja hemolize, mogu se izdvojiti najčešći posredni negativni učinci hemolize, odnosno hemoliziranog uzorka, na samog primatelja zdravstvene skrbi. To su:

- Potreba za ponavljanjem invazivnog postupka uzrokovanja krvi.
- Povećan rizik za infekciju pogotovo kod imunokompromitiranih pacijenta.
- Povećan rizik za bol (neonatološki, pedijatrijski bolesnici kod kojih je stupanj učestalosti hemolize visok).
- Povećan rizik za oštećenje krvne žile, razvoj neke od komplikacija kao posljedice višestrukih uzrokovanja.
- Produženo vrijeme čekanja laboratorijskih nalaza.
- Odgođena primjena terapije.
- Stres, nezadovoljstvo, sumnja da "s nalazima nešto nije u redu kad se ponavljaju".
- Sumnja u kompetencije zdravstvenih djelatnika, gubitak povjerenja.

Podjednako je moguće odrediti najčešći negativni učinke hemolize na zdravstvene djelatnike koji sudjeluju u postupcima uzorkovanja krvi poput:

- Potrebe za ponavljanjem već provedenog postupka.
- Dodatnim utroškom vremena, energije.
- Preopterećenosti.
- Sumnje u vlastite kompetencije.
- Srama.

U konačnici, svi ponavljajući postupci imaju i svoj financijski temelj pa se utjecaj hemolize može preslikati i na ustanovu pružatelja zdravstvene skrbi putem dodatnog neplaniranog financijskog troška, pada standarda kvalitete rada, produženog vremena čekanja na pregled/otпуст pacijenata, povećanje broja žalbi pacijenata, te nezadovoljstvo svih sudionika u procesu liječenja.

## 2.6. Preporuke za uzorkovanje laboratorijskih uzoraka

*„Postupanjem po standardiziranim smjernicama za uzorkovanje, postupanje s krvnim uzorkom smanjuje se rizik za razvoj laboratorijske pogreške za 87%“. (Plebani, Carraro, 2010.)* i to su upravo najbolji alati za dobivanje prihvatljivog uzorka.

Smjernice za provođenje standardiziranih postupaka u svakodnevnom radu medicinskih sestra, tehničara donosi Hrvatska komora medicinskih sestara, HKMS provodi aktivnosti koje omogućuju provedbu zdravstvene njege prema najboljim standardima sestrinske prakse.

*„Standardizirani postupci u zdravstvenoj njezi predstavljaju pravila po kojima su medicinske sestre dužne postupati, jedinstveni način provođenja postupaka osigurava isti standard i sigurnost za svakog bolesnika. Standardizirani postupci su pisani na način koji omogućava, korisniku i medicinskoj sestri, racionalno shvaćanje provedbe postupaka, koraci provedbe postupaka omogućavaju optimalnu iskoristivost vremena, prostora i materijala.“ (HKMS, 2011.)* Potreban pribor, materijal za uzorkovanje krvi za laboratorijske nalaze te stupnjevi izvođenja postupka uzorkovanja krvi za laboratorijske nalaze po smjernicama HKMS-a navedeni su u tablici 1 i 2.

Standardizirani postupak uzimanja uzorka krvi određen je kao postupak uzimanja uzoraka krvi venepunkcijom kojim se iglom ulazi u venu radi sakupljanja venske krvi u štrcaljku ili epruvetu za laboratorijske pretrage. (HKMS, 2011.)

Postupak je prosječnog vremenskog trajanja 10 minuta a provodi ga medicinska sestra, tehničar, laboratorijski tehničar ili drugi djelatnik zdravstvene struke sa svrhom uzimanja uzorka za zatražene pretrage. U svakodnevnom praksi venepunkcijom se najčešće uzrokuje krv iz vena podlaktice nedominantne ruke (vena basilika, cefalika, te najčešće kubitalne vene). Preporuke su da se izbjegava uzorkovanje na unutarnjoj strani ručnog zgloba, na mjestu kožnih promjena, oštećenja, na mjestu nedavne venepunkcije, primjene infuzijskih otopina. Također se kontraindicira uzimanje krvi u dijagnostičke svrhe iz arteriovenske fistule namijenjene za hemodijalizu.

Ispravno provedenom venepunkcijom prema smjernicama HKMS-a se osigurava točnost laboratorijskih nalaza, te se preveniraju laboratorijske pogreške.

U postupku uzorkovanja dodatno je važno povesti računa o prevenciji mogućnosti hemolize pa je nužno veličinu igle prilagoditi fizionomiji, građi, dobi pacijenta, debljini vene iz koje se uzrokuje krv. Zato se najčešće koristi veličina 20G, a 21G za punkciju vena u području ručnog zgloba, šake i gležnja.

Uzorak krvi se uzrokuje u vakuumske epruvete koje se razlikuju po boji čepa te sastavu aditiva i antikoagulanasa unutar same epruvete. Uzorci se uzimaju pomoću jedinstvenog sustava držača i igle za uzimanje krvi ili štrcaljkom. Valja napomenuti da primjena štrcaljke povećava predanalitički rizik za razvoj hemolize. Uzorci se uzimaju u epruvete s podtlakom ovisno o zatraženim pretragama od strane liječnika te se transportiraju u laboratorij u uspravnom položaju, u najkraćem roku izbjegavajući miješanje uzorka.

Prvi korak pri uzorkovanju krvi je procjena pacijentovih vena i odabir palpiranjem te vizualnim pregledom pri čemu se procjenjuje elastičnost, punjenost vene, okolno područje, blizina okolnih arterija te živaca. Pri uzorkovanju krvi potrebno je ispitati pacijenta o mogućnosti postojanja hematoloških ili drugih bolesti ili stanja koju mogu izazvati interferenciju traženih parametra te uzima li neko od antikoagulantnih sredstva te u kojoj količini. (HKMS, 2011.)

Tablica 1. Potreban pribor, materijal za uzrokovanje krvi za laboratorijske analize prema smjernicama HKMS-a

Potreban pribor, materijal za uzrokovanje krvi za laboratorijske analize
Kolica ili taca
Pismeni nalog liječnika koji ordinira pretragu, uputnica
Poveska
Tupferi s antiseptikom za kožu (odabir antiseptika ovisno o pretrazi koja je zatražena)
Jednokratne, nesterilne kirurške rukavice
Hipoalergeni flaster
Vakuumirane epruvete za određenu pretragu (razlikuju se po boji čepova, dodatku reagensa koji se nalazi u epruveti i veličini)
Igle s pripadajućim priborom za vakuumsko vađenje – holder
Olovka za označavanje imena i prezimena na epruveti ili kodirane naljepnice
Stalak za epruvete
Spremnik za odlaganje oštrog i infektivnog pribora
Posuda za nečisto

Tablica 2. Izvođenje postupaka uzrokovanja krvi prema smjernicama HKMS-a

Izvođenje postupka uzrokovanja krvi za laboratorijske analize
Provjeriti ispravnost pribora (rok trajanja epruvete i sterilnosti igle)
Predstaviti se pacijentu
Provjeriti identitet, vrijeme uzimanja uzorka, postojanje mogućih kontraindikacija za uzrokovanje krvi u trenutku
Objasniti postupak i dopustiti pitanja
Udobno smjestiti pacijenta u određeni položaj
Oprati, dezinficirati i posušiti ruke, obući rukavice
Palpiranjem i promatranjem odabrati venu za punkciju
Staviti povesku 10 cm iznad planiranog mjesta punkcije
Palpiranjem pulsa provjeriti da poveska nije prejako zategnuta
Palpacijom odrediti mjesto uboda, zamoliti pacijenta da stisne šaku
Dezinficirati kožu smotuljcima gaze ili vate natopljenim dezinficijensom, pustiti da se osuši
Sastaviti iglu na nastavkom, držač za venepunkciju (Holder)
Skinuti štitnik igle i ubosti odabrano mjesto pod kutom od 40°, spustiti iglu za 10° i uvesti je u venu, kada se pojavi krv uvesti iglu još 5 - 10 mm
Kroz nastavak - Holder spojiti epruvetu s donjim dijelom igle
Kada poteče krv u epruvetu opustiti povesku i otvoriti šaku, ako je vena slabe punoće, ostaviti povesku do kraja vađenja krvi, ali ne dulje od 3 minute, povesku obavezno odvezati prije vađenja igle iz vene
Ako je potrebno uzorkovati više uzoraka, lagano izvući punu epruvetu iz držača i utisnuti novu, ako je potrebno nježnim okretanjem epruvete izmiješati krv s reagensom, izvaditi iglu
Lagano komprimirati mjesto uboda suhim smotuljkom gaze ili vate, uputiti pacijenta da komprimira mjesto uboda kroz 3-5 minuta
Odmah po vađenju krvi obilježiti epruvete prema pravilima
Transportirati uzorke krvi s pripadajućom uputnicom u laboratorij
Igle odložiti u sabirnik za odlaganje oštrog otpada
Raspremiti pribor, svući rukavice i oprati ruke, dokumentirati

## 2.7. Preporuke za postupanje s krvlju nakon uzrokovanja

Svaki uzeti uzorak dragocjen je i stoga ga je do mjesta obrade potrebno dostaviti u odgovarajućem položaju i stalcima pri čemu krv nije u dodiru s čepom, a sve u što je moguće kraćem vremenu. Preporučeno vrijeme dostave je do 2 sata od uzimanja uzorka. U prijenosu uzoraka iz dislociranih jedinica sudjeluje osoblje iz zdravstvene ustanove zaduženo za prijenos. Uzorke ne prenose pacijenti ili rodbina. Pri samom transportu važno je voditi računa o termolabilnim i osjetljivim analitima. Uzorci pune krvi (svi oni uzeti na antikoagulans bez centrifugiranja) smiju se hladiti samo ako za to postoje opravdani razlozi, odnosno ako se time osigurava stabilnost analita kojeg određujemo iz takvih uzoraka (amonijak, laktat, piruvat, gastrin, kateholamini, paratireoidni hormon). U ostalim slučajevima puna krv se ne hladi. Hlađenje se provodi stavljanjem epruveta u usitnjeni led ili mješavinu leda i vode. Sve ostale uzorke u laboratorij se dostavlja na sobnoj temperaturi. Osim vremena transporta, prema standardima dobre stručne prakse definirana su i vremena od uzimanja krvi do izrade pretraga, pa za izradu biokemijskih pretraga vrijeme iznosi do 6 sati, za sedimentaciju eritrocita do 2 sata, za krvnu sliku i pripremu razmaza periferne krvi do 6 sati, za koagulacijske pretrage do 4 sata. Vrlo često traži se naknadno analiziranje nekih uzoraka, pa je dobro znati da svaki medicinsko-biokemijski laboratorij opisuje uvjete čuvanja i navodi najduže vrijeme pohrane uzorka zbog mogućih naknadnih mjerenja i dodatnih ispitivanja. (Honović, 2017.)

## 2.8. Anketno istraživanje „Hemoliza - uzrok laboratorijskih pogrešaka“

U svrhu prikupljanja dodatnih podataka o poznavanju utjecaja hemolize na rezultate laboratorijskih određivanja, provedena je anketno, prospektivnom, istraživanje među 30 zaposlenih medicinskih sestara, tehničara na radilištu Objedinjenog hitnog prijema, Opće bolnice Pula. Sudionici anketnog istraživanja imali su srednju i višu stručnu spremu. Pitanja anketnog istraživanja odnosila su se na opća i specifična znanja povezana uz smjernice za uzrokovanje krvi, razumijevanje laboratorijskih pogrešaka, interferencija s naglaskom na hemolizu uzorka. Također, pitanjima se ispitalo koliko se često djelatnici u svakodnevnom radu susreću s hemoliziranim uzorcima te kako takve slučajevi utječu na njihovo daljnje pružanje zdravstvene skrbi.

Anketnim istraživanjem se također htjela procijeniti potrebu za daljnjom edukacijom u svrhu unapređenja medicinsko tehničkih kompetencija i cjelokupnog procesa pružanja zdravstvene skrbi kako bi se postiglo maksimalno zadovoljstvo, kako pacijenta tako i zdravstvenih djelatnika.

## 2.9. Prikaz anketnog istraživanja

Provedeno anketno istraživanje sastojalo se od 10 pitanja s ponuđenim odgovorima na koje su sudionici odgovarali tako da su trebali odabrati odgovor s kojim im je najprihvatljiviji. Istraživanje je provedeno od 1. do 10. svibnja 2022. godine.

Anketni upitnik je izrađen u programu "Google Forms" te je prosljeđen na osobne mail adrese zaposlenika OHBP-a, dok je nekolicina ispitanika (njih 6 koji ne posjeduju mail adresu) anonimno ispunila upitnik u tiskanom obliku. Anketni upitnik je dostupan je online na poveznici: <http://skr.rs/z4Qh>.

Rezultati anketnog istraživanja obrađeni su u statističkom programu "JASP" (Jeffreys's Amazing Statistics Program) iz kojega su preuzeti statistički podatci za navedeno anketno istraživanje.



Tablica 3. Prikaz postavljenih anketnih pitanja i ponuđenih odgovora

Postavljeno anketno pitanje	Ponuđeni odgovori
1. Jeste li se kroz svoj radni staž, školovanje susreli s pojmom hemoliza, znate li što znači?	<p>a) Da, susreo/susrela sam se, znam što znači.</p> <p>b) Ne nisam se susreo/susrela, ne znam što znači.</p> <p>c) Da susreo/susrela sam se, ali ne znam što znači.</p>
2. Koji navod najbolje opisuje hemolizu po Vašem mišljenju?	<p>a) Hemoliza je crveno obojenje seruma.</p> <p>b) Hemoliza je crveno obojenje seruma, lažno povišeni rezultati za kalij, LDH, transaminaze.</p> <p>c) Hemoliza je oslobađanje staničnih sastojaka samo iz eritrocita.</p>
3. Koliko radnog iskustva imate?	<p>a) 1 – 5 godina.</p> <p>b) 5 – 10 godina.</p> <p>c) 10 – 15 godina.</p> <p>d) Više od 15 godina.</p>
4. Koje ste stručne spreme?	<p>a) SSS.</p> <p>b) Prvostupništvo.</p> <p>c) Magisterij.</p>
5. Po Vašem mišljenju hemoliza najčešće nastaje:	<p>a) Tijekom vađenja krvi.</p> <p>b) Neposredno nakon vađenja krvi.</p> <p>c) U laboratoriju.</p> <p>d) Svi su odgovori točni.</p>
6. Znanja o nastanku, utjecaju hemolize dobili ste:	<p>a) Tijekom rada u struci.</p> <p>b) Od kolega.</p> <p>c) U srednjoj medicinskoj školi.</p> <p>d) Na fakultetu zdravstvenog smjera.</p> <p>e) Samostalno sam se educirao/educirala.</p>
7. Smatrate da je potrebno provesti dodatnu edukaciju o uzrokovanju krvi i utjecaju interferencija na rezultate laboratorijskih pretraga?	<p>a) Da, smatram.</p> <p>b) Ne, ne smatram.</p>

8. Kad Vam iz laboratorija jave da je dostavljeni uzorak hemoliziran što ćete učiniti?	<p>a) Obavijestiti liječnika te postupiti po njegovim uputama.</p> <p>b) Odmah uzrokovati novi uzorak krvi, bez konzultacije s liječnikom, laboratorijem.</p> <p>c) Pokušati dogovoriti s laboratorijem da unatoč hemolizi iz uzorka naprave što je zatraženo.</p>
9. Koliko puta okrećete epruvetu s crvenim čepom nakon uzrokovanja krvi?	<p>a) Ne okrećem epruvetu.</p> <p>b) Lagano okrenem epruvetu 2-3 puta.</p> <p>c) Dobro promiješam epruvetu s uzorkom da se uzrokovana krv ne bi zgrušala.</p>
10. Po Vašoj pretpostavci koliko često Vam javljaju iz laboratorija da se ne može izdati nalaz iz krvi koju ste uzrokovali jer je uzorak hemoliziran?	<p>a) Više puta tjedno.</p> <p>b) Jednom do nekoliko puta mjesečno.</p> <p>c) Nekoliko puta godišnje.</p> <p>d) Rijetko, gotovo nikada.</p>

## 2.10. Rezultati anketnog istraživanja

Tablica 4. Rezultati provedenog anketnog istraživanja

Postavljeno anketno pitanje	Ponuđeni odgovori	Rezultati anketnog istraživanja
1. Jeste li se kroz svoj radni staž, školovanje susreli s pojmom hemoliza, znate li što znači?	<p>a) Da, susreo/susrela sam se, znam što znači.</p> <p>b) Ne nisam se susreo/susrela, ne znam što znači.</p> <p>c) Da susreo/susrela sam se, ali ne znam što znači.</p>	<p>a) 83%</p> <p>b) 17%</p> <p>c) 0%</p>
2. Koji navod najbolje opisuje hemolizu po Vašem mišljenju?	<p>a) Hemoliza je crveno obojenje seruma.</p> <p>b) Hemoliza je crveno obojenje seruma, lažno povišeni rezultati za kalij, LDH, transaminaze.</p>	<p>a) 13,3%</p> <p>b) 83,3%</p> <p>c) 3,3%</p>

	c) Hemoliza je oslobađanje staničnih sastojaka samo iz eritrocita.	
3. Koliko radnog iskustva imate?	a) 1 – 5 godina. b) 5 – 10 godina. c) 10 – 15 godina. d) Više od 15 godina.	a) 40% b) 36,7% c) 16,7% d) 6,7%
4. Koje ste stručne spreme?	a) SSS. b) Prvostupništvo. c) Magisterij.	a) 80% b) 20% c) 0%
5. Po Vašem mišljenju hemoliza najčešće nastaje:	a) Tijekom vađenja krvi. b) Neposredno nakon vađenja krvi. c) U laboratoriju. d) Svi su odgovori točni.	a) 56,7% b) 33,3% c) 10% d) 0%
6. Znanja o nastanku, utjecaju hemolize dobili ste:	a) Tijekom rada u struci. b) Od kolega. c) U srednjoj medicinskoj školi. d) Na fakultetu zdravstvenog smjera. e) Samostalno sam se educirao/educirala.	a) 53,3% b) 23,3% c) 13,3% d) 10% e) 0%
7. Smatrate da je potrebno provesti dodatnu edukaciju o uzrokovanju krvi i utjecaju interferencija na rezultate laboratorijskih pretraga?	a) Da, smatram. b) Ne, ne smatram.	a) 86,7% b) 13,3%
8. Kad Vam iz laboratorija jave da je dostavljeni uzorak hemoliziran što ćete učiniti?	a) Obavijestiti liječnika te postupiti po njegovim uputama. b) Odmah uzrokovati novi uzorak krvi, bez konzultacije s liječnikom, laboratorijem. c) Pokušati dogovoriti s laboratorijem da unatoč "hemolizi" iz uzorka naprave što je zatraženo.	a) 83,3% b) 16,7% c) 0%
9. Koliko puta okrećete epruvetu s crvenim čepom nakon uzrokovanja krvi?	a) Ne okrećem epruvetu. b) Lagano okrenem epruvetu 2-3 puta.	a) 30% b) 70% c) 0%

	c) Dobro promiješam epruvetu s uzorkom da se uzrokovana krv ne bi zgrušala.	
10. Po Vašoj pretpostavci koliko često Vam javljaju iz laboratorija da se ne može izdati nalaz iz krvi koju ste uzrokovali jer je uzorak hemoliziran?	a) Više puta tjedno. b) Jednom do nekoliko puta mjesečno. c) Nekoliko puta godišnje. d) Rijetko, gotovo nikada.	a) 76,7% b) 23,3% c) 0% d) 0%

Rezultati anketnog istraživanja pokazuju da su se svi ispitani zdravstveni djelatnici (N=30) susreli s pojmom hemolize kroz svoji radni staž i obrazovanje. 25 sudionika (84%) izjavljuje da zna što znači pojam hemoliza, dok se 5 (16%) susrelo s pojmom ali ne zna što znači. Nitko nije izjavio da se nije susreo s pojmom hemolize. Većina (N=25, 84%) opisuje hemolizu kao crveno obojenje seruma, koje uzrokuje lažno povišene rezultate za kalij, LDH, transaminaze, dok četvero (13%) opisuje hemolizu kao crveno obojenje seruma, a jedan ispitanik (3%) opisuje hemolizu kao proces oslobađanja staničnih sastojaka samo iz eritrocita.

Većina zaposlenih je srednje stručne spreme (N=24, 80%), dok su 6 ispitanika (20%) prvostupnici sestrinstva. Nitko od ispitanika nije završio magisterij. Od svih ispitanika 12 ispitanika (40%) ima 1 – 5 godina radnog staža, 11 (36%) ima 5 – 10 godina radnog staža, 5 (16%) ima 10 – 15 godina, dok 2 ispitanika (6%) imaju više od 15 godina radnog staža. 17 anketiranih (56%) smatra da se hemoliza najčešće razvija tijekom vađenja krvi, 10 (33%) misli da se hemoliza razvija neposredno nakon vađenja krvi, dok njih 3 (10%) misli da se hemoliza razvija u laboratoriju tijekom analize.

Znanja koja ispitanici posjeduju o nastanku, utjecaju hemolize dobili su tijekom rada u struci (N=16, 53%), od radnih kolega (N=7, 23%), tijekom srednjoškolskog obrazovanja (N=4, 13%) te na fakultetu (N=3, 10%). Nitko nije izjavio da se samostalno educirao, no većina smatra da bi dodatna edukacija bila korisna (N=26, 86%), dok 4 ispitanika (14%) smatra da ne treba dodatnu edukaciju.

Većina ispitanika ispravno postupaju po obavijesti od strane laboratorija da je uzorak koji je poslan na analizu hemoliziran. 25 ispitanika (83%) izjavljuje kako bi se u tom slučaju konzultirao s liječnikom i laboratorijem o daljnjem postupanju, dok 5 ispitanika (17%)

bi odmah ponovo uzrokovalo krv bez konzultacije. Nitko od ispitanika ne bi pokušao dogovoriti s laboratorijem da se nalazi izrade unatoč hemolizi.

9 ispitanika (30%) misli da se epruveta s crvenim čepom ne treba okretati, dok 21 ispitanik (70%) izjavljuje da je nakon uzrokovanja krvi epruvetu s crvenim čepom potrebno lagano okretati 2 – 3 puta. Nitko ne smatra da se epruvetu s crvenim čepom treba dobro promiješati da se krv ne bi hemolizirala. Od svih ispitanika, 23 (76%) izjavljuje kako iz laboratorija više puta tjedno dobiju obavijest kako je uzorak koji su uzrokovali hemoliziran, 7 (23%) izjavljuje da takvu obavijest dobiva rjeđe, jednom do nekoliko puta mjesečno. Nema ispitanika koji izjavljuju da obavijest o hemolizi dobivaju vrlo rijetko, nekoliko puta godišnje ili gotovo nikad.

#### 2.11. Učestalost hemoliziranih uzoraka na objedinjenom hitnom prijemu

Odjel za medicinsko biokemijsku djelatnost Opće bolnice Pula, u razdoblju od 01. siječnja do 31. svibnja 2022. godine zaprimio je 6724 uzoraka krvi s Objedinjenog hitnog bolničkog prijema. Od svih zaprimljenih uzoraka jedan je uzorak bio krivo obilježen (pogreška u identifikaciji pacijenta), 5 uzoraka krvne slike zgrušano i 714 uzoraka hemolizirano sa stupnjevima hemolize neprihvatljivim za daljnju obradu u laboratoriju

Dakle, od svih zaprimljenih uzoraka, 10,6% uzoraka je pokazivalo određeni stupanj hemolize. Ovaj podatak o hemoliziranim uzorcima je relativno velik i kao takav ima značajan utjecaj na kompletan proces pružanja zdravstvene usluge i ukupne troškove.

### 3. RASPRAVA

U dostupnim literaturnim podacima istraživanje učestalosti različitih interferencija na laboratorijske rezultate je vrlo često. Najčešće pogreške gotovo uvijek se bilježe u predanalitičkoj fazi pri čemu se gotovo 70% odnosi na pogreške pri identifikaciji, dok manji dio otpada na analitičku i postanalitičku fazu.

Nasreću, veliki dio pogrešaka ne utječe na daljnji ishod, tijekom liječenja i opće stanje pacijenta. Samo manji dio utječe na daljnju dijagnostičko terapijsku obradu, ponovljena uzrokovanja krvi i laboratorijske analize. Pogreške najnegativnije utječu na pacijente koji su primili neodgovarajuću terapiju kao posljedicu laboratorijske pogreške. (Plebani i Carraro, 2010.)

Najčešći uzrok hemolize javlja se u predanalitičkom dijelu laboratorijskog procesa. Na njega možemo utjecati dodatnom edukacijom, upoznavanjem zdravstvenih djelatnika koji sudjeluju u predanalitičkoj fazi sa smjernicama za uzrokovanje, skladištenje te transport uzrokovanih uzoraka.

Provedenim prospektivnim anketnim istraživanjem među djelatnicima Objedinjenog hitnog prijema pokazalo se da postoji nesklad između rezultata ankete i podataka laboratorija o učestalosti hemolize u određeno periodu. Naime, dok djelatnici pri odgovaranju na anketna pitanja pokazuju poznavanje problematike hemoliziranih uzoraka, te spremnost za daljnju edukaciju i obrazovanje, (nekolicina se i samostalno educira, bez inicijative voditelja odjela), nadalje postoji veliki broj hemolitičnih uzorka koji dopijevaju u laboratorij i upravo su predanalitičkog uzroka. Najčešće su posljedica neadekvatnog uzrokovanja, postupanje s krvnim uzorcima, skladištenjem i transportom.

Većina zaposlenih na OHBP-u imaju malo radnog staža (od 1-5 godina ima 40%, dok od 5-10 godina radnog staža ima 36,7%) i OHBP im je prvo mjesto zaposlenja pa možemo pretpostaviti da bi učestalosti hemolize mogao doprinositi nedostatak specifičnih znanja i iskustava. Također iz anketnog istraživanja možemo zaključiti da je većina ispitanika srednje stručne spreme (80%). To je važno znati jer trenutni program srednjoškolskog obrazovanja nema predmete kroz koje se učenicima prenosi znanje kako prevenirati interferencije u laboratorijskoj dijagnostici već se učenicima prenosi znanje o standardima za izvođenje postupka uzrokovanja krvi.

Učestalosti nastalih pogreška u predanalitičkoj fazi mogla bi doprinositi i činjenica da je 53,3% anketiranih djelatnika izjavilo kako su znanje o nastanku i utjecaju hemolize na laboratorijske parametre dobili tijekom rada u struci, a 23,3% anketiranih znanje su dobili od kolega na radnom mjestu. Takvo znanje je dobro došlo ali nije relevantno jer nije potkrepljivo znanstvenim činjenicama već se temelji na osobnim subjektivnim opažanjima.

Unatoč postojanju mogućih faktora koji bi mogli doprinositi razvoju hemolize (malo radnog staža, izvor znanja kolege, radno iskustvo), odgovori na anketna pitanja su uglavnom zadovoljavajući i ispitanici zdravstveni djelatnici odgovorima na anketno istraživanje pokazuju da posjeduju specifična znanja vezano uz pojam hemolize.

Daljnjom analizom i provjerom podataka, provjerena je ispravnost pribora, epruveta, te načina čuvanja uzoraka do transporta. U tim dijelovima nisu uočene nepravilnosti koje bi mogle doprinositi povećanom broju hemoliziranih uzoraka. No, u dijelu postupka koji se odnosi na transport do laboratorija uočen je kritični čimbenik koji može doprinijeti kasnijoj detekciji hemoliziranosti uzorka.

Naime, pri OHBP-u su u dnevnoj smjeni zaposlena dva pratioca koji raznose krv u dnevnoj smjeni i jedan koji to radi u noćnoj smjeni. Osim zadaće transporta krvi u laboratorij isti ti pratioci imaju zadaće pratnje pacijenta na različite dijagnostičke preglede, odjele, transporta uzoraka na transfuziju. Također, sudjeluju vikendom u obavljanju istih zadataka na razini cijele bolnice i odjela za dijalizu. O obimu posla dovoljno govore podatci o prosječnom broju pacijenata na OBHP-u koji se kreće oko 150 tijekom 24 sata, pri čemu gotovo svaki od navedenih pacijenata u nekom trenutku treba pratioca. Analizom dnevnika u kojem se upisuju svi uzorci koje pratioci u jednoj smjeni transportiraju, uključujući i broj transporta laboratorijskih uzoraka u laboratorij, s vremenom indiciranja te vremenom kada su pratioci obavili zatraženo, dobiveno je prosječno vrijeme čekanja od uzrokovanja do transporta u laboratorij koje iznosi 44 minute.

Usporedbom provedenog anketnog istraživanja u OB Puli na Objedinjenom hitnom bolničkom prijemu s istraživanjem provedenog 2015.god u bolnici Fran Mihaljević u Zagrebu pod nazivom "Hemolysis from a nurses' standpoint – survey from four Croatian hospitals" (Dorotić, 2015) možemo zaključiti da nema velikih odstupanja u dobivenim rezultatima između provedenih istraživanja. Istraživanje autorice Dorotić

bilo je provedeno na 562 ispitanika i temeljilo se na 11 postavljenih anketnih pitanja koja se odnose na učestalost slučajeva hemolize, učinak hemolize na laboratorijske parametre, na opće znanje vezano uz predanalitičku fazu laboratorijske dijagnostike te spremnost i stav medicinskih sestra/tehničara prema dodatnoj edukaciji vezano uz navedenu tematiku. Rezultati tog istraživanja su pokazali da je 99,6% ispitanika upoznato s pojmom hemolize. Na postavljena pitanja vezana uz posjedovanje specifičnih znanja o uzrocima hemolize 77% ispitanika dalo je točne odgovore, no samo 50% ispitanika pokazalo je znanje vezano uz znanje o interferencijama. Uvidom u provedeno istraživanje uočeno je da medicinske sestre/tehničari višeg obrazovnog statusa imaju veći udio točnih odgovora u odnosu na medicinske sestre/tehničare srednje stručne spreme. Većina ispitanika (70%) anketnog istraživanja autorice Dorotić, izjasnila se kako smatra da bi dodatne edukacije doprinjele smanjenju udjela hemoliziranih uzoraka te da bi rado takve edukacije pohađali. Dorotić zaključuje kako su medicinske sestre/tehničari koji su sudjelovali u anketnom istraživanju upoznati s pojmom hemolize i posjeduju znanja o njemu, dok je znanje o uzrocima hemolize i utjecaju na laboratorijsku analizu manje. Ohrabruje podatak da je većina ispitanika svojim odgovorima na anketna pitanja pokazala spremnost na daljnje stručno usavršavanje.

Veliku ulogu u smanjenju učestalosti laboratorijskih pogrešaka, osobito onih u predanalitičkoj fazi na koje laboratorijsko osoblje i nema većeg utjecaja, pridonosi usvajanje laboratorijskih smjernica i preporuka, pravila i normi kao što su akreditacijski standardi ISO/IEC 15189 osiguravaju se mjere kojima se može smanjiti učestalost laboratorijskih pogrešaka. Tako, Standard ISO/IEC 15189 određuje smjernice postupanja u predanalitičkoj fazi (smjernice za uzrokovanje, postupanje s uzorkom, skladištenje, čuvanje do transporta te transport uzorka), donosi preporučene postupke kojih se zdravstveni djelatnik treba pridržavati u procesu postupanja s krvnim uzorkom kako bi se osigurala profesionalna odgovornost. Pri tome, smanjuje se udio pogrešaka kao posljedica nekompetentnosti i needuciranosti zdravstvenog osoblja, uvodi se pisani referentni postupak za svaki pojedini segment laboratorijskog rada. Primjena smjernica i preporuka omogućuje točniju analizu i interpretaciju u određenim vremenskim intervalima, te omogućuje procjenjivanje vjerojatnosti ishoda ponovne pogreške, te potrebe za prilagodbom standarda trenutnom stanju u radnoj sredini. Pri



tome je važna mogućnost povezivanja nastalih pogrešaka i mogućih posljedica na zdravlje pacijenta.

Anketno istraživanje provedeno u OB Pula na Objedinjenom hitnom bolničkom prijemu, pokazalo je potrebu za stalnom edukacijom i primjenom standarda kao korisnih i uspješnih alata za komparaciju uspješnosti različitih dijelova zdravstvenog sustava i kontinuirano poboljšanje kvalitete rada.

Nedostatnost ovog istraživanja mogla bi se iskazati manjim brojem sudionika jer bi se uključivanjem većeg broja sudionika, u anketna istraživanja različitih obrazovnih struktura te proširenjem broja anketnih pitanja dobili objektivniji i relevantniji rezultati.

#### 4. ZAKLJUČAK

Problem hemolize čest je u svakodnevnom procesu pružanja zdravstvene zaštite i skrbi.

Učestalo pojavljivanje procesa hemolize u laboratorijskoj dijagnostici doprinosi povećanju troškova ustanove pružatelja zdravstvene skrbi, nezadovoljstvu kako zdravstvenih djelatnika i cijelog zdravstvenog tima tako i pacijenta koji su zatražili medicinsku pomoć. Hemoliza također indirektno i direktno utječe na sam ishod dijagnostičkog i terapijskog postupka s manjom ili većom značajnošću.

Predanalitičke interferencije su uglavnom posljedica nepravilnog postupanja zdravstvenih djelatnika. Stoga je od izuzetne važnosti dodatno educirati zdravstvene djelatnike i podučiti ih koliko je zapravo ozbiljan učinak laboratorijskih pogrešaka na cjelokupan proces zdravstvene skrbi.

Provedenim anketnim istraživanjem i relativno veliki broj hemoliziranih uzoraka zaprimljenih iz Objedinjenog hitnog prijema pokazano je da bi bilo korisno kad bi zdravstvena ustanova dodatno poticala daljnje obrazovanje i profesionalno usavršavanje svojih zaposlenika, te kad bi se redovito održavale edukacije i tečajevi na temu laboratorijske dijagnostike i prevencije interferencija.

Osim daljnje edukacije zdravstvenih djelatnika koji uzrokuju krv, potrebno je dodatno posvetiti se analizi vremena čekanja na transport uzoraka.

## 5. LITERATURA

1. Atay A. (2014.) *Clinical biochemistry laboratory rejection rates due to various types of preanalytical errors*. [Pristupljeno online 15.06.2022. u 11:45] (Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/clanak/197200> ).
2. Dorotić A. (2015.) *Hemolysis from a nurses' standpoint – survey from four Croatian hospitals*. [Pristupljeno online 29.05.2022. u 10:20] (Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/clanak/218835> ).
3. Šimundić A.M i sur. (2010.) *Hemolysis detection and management of hemolyzed specimens*. *Biochemia Medica* Vol. 20, No. 2, [Pristupljeno online 12.06.2022. u 11:23] (Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/clanak/81369> ).
4. Jones B.A. i sur. (1997.) *Chemistry specimen acceptability. A College of American Pathologists Q-Probes study of 453 laboratories*. *Arch Pathol Lab Med*. [Pristupljeno online 12.06.2022. u 08:23] (Dostupno na: <http://skr.rs/z4wa> ).
5. Ricos C. i sur. (2004.) *The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports*. *Scand J Clin Lab Invest*. [Pristupljeno online 12.06.2022. u 09:43] (Dostupno na: <http://skr.rs/z4w7> ).
6. CDC (2021.) *A Quick-Reference Tool for Hemolysis Status*. [Pristupljeno online 13.06.2022. u 19:33] (Dostupno na: <http://skr.rs/z4wX> )
7. Milutinović D. (2015.) *Confidence level in venipuncture and knowledge on causes of in vitro hemolysis among healthcare professionals*. [Pristupljeno online 16.05.2022. u 21:15] (Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/clanak/218836> ).
8. Dimeski G. (2008.) *Interference testing*. *Clin Biochem Rev*. [Pristupljeno online 12.06.2022. u 11:00] (Dostupno na: <http://skr.rs/z4w3> ).
9. Gidske G. i sur. (2019.) *Handling of hemolyzed serum samples in clinical chemistry laboratories: the Nordic hemolysis project*. *Clin Chem Lab Med*. [Pristupljeno online 14.06.2022. u 16:35] (Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31617690/> ).
10. Lippi G (2011.) *Studies on in vitro hemolysis and utility of corrective formulas for reporting results on hemolyzed specimens*. [Pristupljeno online 11.05.2022. u 20:15] (Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/clanak/108622> ).

11. Lippi G. (2015.) *The use of S-Monovette is effective to reduce the burden of hemolysis in a large urban emergency department*. [Pristupljeno online 01.06.2022. u 09:24] (Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/clanak/205317> ).
12. HKMB (2011.) *Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće, specijalne i visokodiferentne medicinske biokemije*. [Pristupljeno online 05.06.2022. u 19:30] (Dostupno na: <http://skr.rs/z4wM>)
13. Palić J. Pouzdanost određivanja indeksa hemolize, lipemije i ikterije na koagulacijskim analizatorima. Diplomski rad, FBF 2020. [Pristupljeno online 13.06.2022. u 22:12] (Dostupno na <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:793753>)
14. Koseoglu M (2011.) *Effects of hemolysis interference on routine biochemistry parameters*. [Pristupljeno online 01.06.2022. u 19:43] (Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/clanak/96728> ).
15. L. Honović (2013.). Zašto nam je važna i kako provoditi kvalitetnu prijeanalitičku fazu laboratorijske dijagnostike. Glas. pul. boln. 2013;[Pristupljeno online 01.07.2022. u 13 sati] (Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/file/193041>)
16. Sierra-Amor R.I. (2007.) *Akreditacija medicinskog laboratorija prema ISO 15189:2003. The Mexican experience*. [Pristupljeno online 12.06.2022. u 11:05] (Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/clanak/28253> ).
17. Dodig S (2009.) *Interferencije svojstvene kvantitativnim imunokemijskim metodama*. [Pristupljeno online 15.06.2022. u 14:20] (Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/file/51324> ).
18. Gyldenholm T. i sur. (2021.) *Haemolysis in prehospital blood samples*. Scand J Clin Lab Invest. [Pristupljeno online 12.06.2022. u 08:23] (Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34182857/> ).
19. WHO (2011.) *Laboratory Quality Management System*. Public Health Laboratory Strengthening, [Pristupljeno online 13.06.2022. u 22:12] (Dostupno na: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/53192/retrieve> ).
20. Šimundić A.M. i sur. (2020). Managing hemolyzed samples in clinical laboratories. Crit Rev Clin Lab Sci 2020 Jan;57(1):1-21

## 6. SAŽETAK

Hemoliza je jedan od vodećih uzroka neprihvatanja uzoraka za rad u laboratorijskoj dijagnostici. Osim što produžuje vrijeme čekanja na primjenu prikladne terapije i zdravstvene skrbi ova laboratorijska pogreška višestruko negativno utječe na sve sudionike zdravstvene skrbi, od pacijenta kao objekta zdravstvene zaštite do zdravstvenih djelatnika i same ustanove. Posljedice hemolize mogu se kretati od minimalnih koje se isprave ponovnim uzrokovanjem i analizom krvi, do težih i ozbiljnijih posljedica koje ozbiljno mogu utjecati na pacijentovo zdravlje i ishod liječenja, te naposljetku mogu uzrokovati profesionalnu odgovornost i krivicu. Hemoliza je uglavnom uzrokovana pogreškama u predanalitičkoj fazi na koje možemo utjecati postupanjem po smjernicama, standardima, pridržavajući se propisanih tehnika za uzrokovanje, čuvanje i transport uzorka. Stalna edukacija, iskustvo, doprinose smanjenju laboratorijskih pogrešaka nastalih sestrinskim intervencijama. Svako odstupanje vrijednosti od predviđenih intervala, općeg stanja pacijenta obavezno se trebaju provjeriti i ponovno analizirati. Jedna od najvažnijih mjera prevencije izdavanja neprihvatljivih nalaza je timski rad i interdisciplinarna suradnja svih zdravstvenih djelatnika uključenih u proces zdravstvene skrbi, te međusobna konzultacija pri postojanju nejasnoća i odstupanja. Osim pogreška u predanalitičkoj fazi ključne su i one u analitičkoj i postanalitičkoj fazi koje mogu biti posljedica ljudskog faktora, nepravilnog postupanja s laboratorijskim aparatima ili posljedica računalnih pogrešaka u analizi.

Poznavajući kritične faze cjelokupnog procesa dobivanja laboratorijskog nalaza, možemo djelovati preventivno, s većom dozom opreza kako bi se iste pogreške izbjegle, pravovremeno prepoznale te kako bi konačni nalazi bili prije svega točni. Prevencija laboratorijskih pogrešaka zahtijeva dobro prepoznavanje i pravovremenost uklanjanja mogućih uzorka. Osobito je važna suradnja cijelog zdravstvenog tima, od medicinske sestre koja je uzorkovala krv, laboratorijskih tehničara koji su izvršili pripremu za analize i medicinskih biokemičara koji potvrđuju točnost rezultata. Velika uloga u tome pripada stalnoj i jasnoj komunikaciji, te edukaciji svih sudionika u izradi laboratorijskih nalaza.

**Ključne riječi: hemoliza, interferencije, predanalitika, laboratorijska dijagnostika.**

## 7. SUMMARY

Haemolysis is one of the most common causes of samples rejection in laboratory diagnosis. It does not only prolongs the waiting period for the administration of appropriate therapy and medical care but this laboratory mistake has multiple negative effects on all the health care participants, from the patient as a an object of medical care, to the health care employees and the institution itself. The consequences of haemolysis can vary from those of low impact, which are remediable through a repeated sampling and blood analysis, to those heavier and more serious, which can impact in a severe manner the patient's health, and eventually can cause professional liability and guilt. Haemolysis is mainly caused by mistakes in a pre-analytical phase, which can be avoided by following existing guidelines, standards, prescribed sampling techniques, storage and transport of samples. Continuous education and experience contribute to diminish the laboratories' mistakes created by nursing intervention. Every deviation of values from the foreseen intervals and general condition of the patient shall be obligatorily checked and analysed again. One of the most important measures of prevention against the output of unacceptable results is team work and interdisciplinary collaboration of the entire healthcare staff involved in the healthcare procedure, as well as mutual consulting in case of ambiguities and deviations. Not only are errors during pre-analytical phase, but also errors in analytical and post-analytical phase, of the utmost importance too. Those errors can be result of human factor, irregularly handling of laboratory's equipment, or computing errors in the analysis.

Being acquainted with the critical phases of the complete output process of laboratory's test results, enable us to act preventively with more attention, in order to avoid and timely recognize the same mistakes and obtain the final results accurate, above all. Prevention of laboratory mistakes requires good recognition and timely removal of possible samples. The cooperation starts with the nurse who takes the blood sample, followed by the laboratory technicians who prepare it for the analysis and by medical biochemists who confirm the accuracy of the results. A big role in this process is played by both continuous and comprehensible communication as well as by education of all the participants in the process of release of laboratory test results.

**Key-words: haemolysis, interference, pre-analysis, laboratory diagnostics.**

## **8. POPIS SLIKA I TABLICA**

### **POPIS SLIKA**

Slika 1. Stupnjevi razgradnje eritrocita .....	13
Slika 2. Vizualno stupnjevanje hemolize seruma .....	14

### **POPIS TABLICA**

Tablica 1. Potreban pribor, materijal za uzrokovanje krvi za laboratorijske analize po smjericama HKMS-a.....	20
Tablica 2. Izvođenje postupaka uzrokovanja krvi po smjericama HKMS-a.....	21
Tablica 3. Prikaz postavljenih anketnih pitanja i ponuđenih odgovora .....	24
Tablica 4. Rezultati provedenog anketnog istraživanja.....	25