

## LABORATORIJSKA MEDICINA U PEDIJATRIJI: INTERFERENCIJE LABORATORIJSKIH ANALIZA I INTERPRETACIJA LABORATORIJSKOG NALAZA

JASNA LENIČEK KRLEŽA\*

*Laboratorijski rad je složeni proces koji u cjelokupnoj obradi bolesnika ima za cilj izdavanje nalaza. Izdani nalaz mora biti vjerodostojan i liječnik ga mora pravilno interpretirati. Jedino na taj način može imati svoju vrijednost i biti ključni dokument u donošenju medicinskih odluka. Za pravilnu interpretaciju potrebno je poznavati i prepoznati sve potencijalne čimbenike koji mogu utjecati na rezultat svakog laboratorijskog parametra. Ovaj rad daje pregled interferencija laboratorijskih analiza kao i mogućih pogrešaka prilikom interpretacije nalaza. Namjera je pomoći liječnicima pri interpretaciji laboratorijskih nalaza s naglaskom na problematiku laboratorijske medicine u pedijatriji. Poznavanje i prepoznavanje mogućih interferencija značajno bi umanjio udio pogrešaka i povećao kakvoću cjelokupne zdravstvene skrbi.*

Deskriptori: LABORATORIJSKI PRIRUČNICI; MEDICINSKE POGREŠKE; BIOLOŠKI BILJEZI; DIJETE; DIJETE, PREDŠKOLSKO

### UVOD

Živimo u eri medicine temeljene na dokazima (EBM, eng. *evidence-based medicine*) cilj koje je rješavanje problema varijacija u kliničkoj praksi. Radi toga se uvode standardizirane upute za rad koje postaju temelj profesionalnog rada kliničara, ali i jedini kriterij za donošenje medicinskih odluka. Ovakva strategija uvjetuje suradničku prirodu medicinskog rada kao i učinkovite promjene u kliničkoj praksi (1).

Laboratorijski rad je važan dio sveukupne obrade bolesnika. Cjelokupni proces obuhvaća niz postupaka koji započinje izdavanjem zahtjeva za laboratorijskim pretragama, a završava izdavanjem rezultata analiziranja, odnosno nalaza. Dijeli se u tri osnovne faze koje su povezane i odvijaju se u kontinuitetu: prijeanalitička, analitička i poslijeanalitička. Samo analitička faza se u potpunosti odvija u laboratoriju. Osim laboratorijskog, prijeanalitička i poslijeanalitička

faza uključuje i izvanlaboratorijski djelokrug rada.

Prema Međunarodnoj organizaciji za standardizaciju (engl. *International Organization for Standardization, ISO*), laboratorijska pogreška je svaka „nesukladnost“ koja se može dogoditi u bilo kojoj fazi zdravstvene zaštite, a koja podrazumijeva rad s laboratorijskim nalazima (2). Drugim riječima, specijalist medicinske biokemije odgovoran je za svaku pogrešku nastalu od trenutka zahtjeva za pojedinim pretragama, izvještavanja nalaza, njihova tumačenja pa do medicinskih postupaka poduzetih na osnovi laboratorijskog nalaza. U tom kontekstu odgovornost za laboratorijski nalaz proširuje i djelokrug njegova rada.

Postupak akreditacije u zdravstvenoj zaštiti priprema se na nacionalnoj razini i važan je dio politike budućeg razvoja zdravstvene zaštite u Hrvatskoj. Postupci certifikacije i akreditacije imaju za cilj prepoznati sve izvore pogrešaka i sustavno ih kontrolirati (3). Preduvjet zahtjevnog procesu akreditacije je raščlamba i prepoznavanje kritičnih mjesta u laboratorijskom radu. Sustavno praćenje svih laboratorijskih procesa u konačnici bi značajno pridonijelo ukupnoj kakvoći laboratorijskog rada, a time i cjelokupnoj zdravstvenoj skrbi bolesnika.

Podatci iz literature o udjelu pogrešaka u cjelokupnom dijagnostičkom procesu upućuju na to da je najmanji udio pogrešaka u analitičkoj fazi rada (4-13%). U prijeanalitičkoj i poslijeanalitičkoj fazi taj udio je značajno veći i kreće se od 50-70% (slika 1). Osim toga, procjenjuje se da je od 0,1 do 9,3% svih izdanih nalaza pogrešno (3-8). Kritičan postotak pogrešaka u izvananalitičkim fazama (prije analitička i poslijeanalitička faza) zahtijeva jasno definiranje i standardiziranje svakog segmenta rada u obje faze. Izvananalitička faza nadilazi područje rada stručnog laboratorijskog osoblja. To otežava standardizaciju svakog dijela procesa. Ona uključuje cjelokupno medicinsko osoblje.

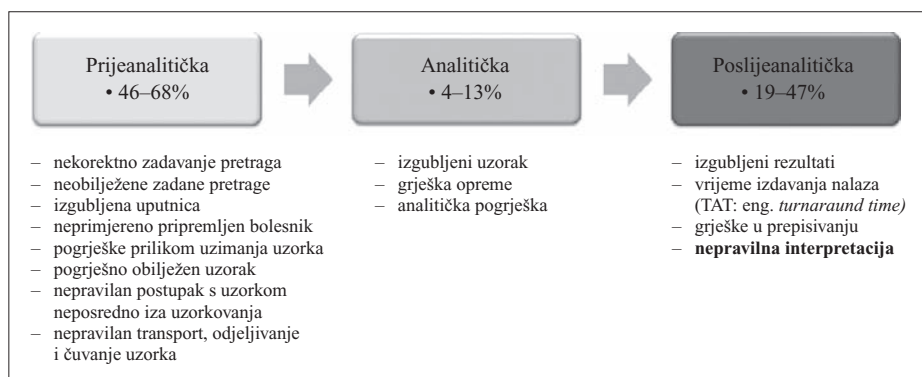
Poslijeanalitička faza (unutar koje se nalazi približno 50% ukupnih pogrešaka) odnosi se uglavnom na nepravilnu interpretaciju nalaza, dok uvođenje laboratorijskog informatičkog sustava (LIS) ostale pogreške iz ove faze svodi na minimum.

### Interpretacija nalaza

Termin interpretacija nalaza obuhvaća tumačenje laboratorijskog nalaza radi donošenja medicinske odluke. Odvija se na dvije razine poslijeanalitičke faze: a) na razini medicinskog biokemičara koji

\* Klinika za dječje bolesti Zagreb

Adresa za dopisivanje:  
Dr. sc. Jasna Leniček Krleža, spec. med. biochem.,  
Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klinička jedinica  
za medicinsku biokemiju u pedijatriji, Klaićeva 16,  
10000 Zagreb, e-mail: jlenicek@gmail.com



Slika 1. Raspodjela pogriješaka u ukupnom procesu laboratorijskog rada s primjerima pogriješaka u svakoj fazi rada (Modificirano prema Kalra (4))

prije izdavanja nalaza donosi odluku o prihvatljivosti uzorka i vjerodostojnosti rezultata dobivenih laboratorijskim analizama i b) na razini liječnika koji donosi odluku o daljnjem liječenju bolesnika. Da bi donosili ovako značajne medicinske odluke, medicinski biokemičari i liječnici moraju poznavati i prepoznati sve moguće čimbenike koji bi mogli utjecati na rezultat laboratorijske pretrage. Pritom se posebno naglašava obostrana suradnja i komunikacija na razini medicinski biokemičar – liječnik. Gotovo je nemoguće na zahtjev (uputnicu) staviti sve podatke koji bi medicinskom biokemičaru olakšali donošenje odluke o izdavanju nalaza. Isto tako medicinski biokemičar u napomena-

Tablica 1. Dopušteno odstupanje za pojedine parametre prema CLIA kriteriju

Analit	CLIA (+/-)
Albumin	10%
ALP (U/L,37°C)	30%
ALT (U/L,37°C)	20%
Amilaza (U/L,37°C)	30%
AST (U/L,37°C)	20%
Ukup. bilirubin (umol/L)	20%
Ukup. kalcij (mmol/L)	0,25 mmol/L
Kloridi (mmol/L)	5%
Kolesterol (mmol/L)	10%
CK (U/L,37°C)	30%
Kreatinin (umol/L)	15%
Glukoza (mmol/L)	10%
Željezo (umol/L)	20%
LDH (U/L,37°C)	20%
Magnezij (mmol/L)	25%
Fosfor (mmol/L)	10%
Kalij (mmol/L)	0.5 mmol/L
Ukup. proteini (g/L)	10%
Natrij (mmol/L)	4 mmol/L
Trigliceridi (mmol/L)	25%
UIBC (umol/L)	10%
Urea (mmol/L)	9%
Mokraćna kiselina (umol/L)	17

ma uz izdani nalaz ne može staviti što sve i u kojoj mjeri može utjecati na rezultate analiziranja.

Procjena rezultata laboratorijskih pretraga uključuje transversalnu i longitudinalnu procjenu. Transverzalna procjena odnosi se na usporedbu dobivenih rezultata s referentnim intervalom (RI), dok se longitudinalna procjena odnosi na usporedbu dobivenog nalaza s prethodnim rezultatom. Na kraju se postavlja pitanje i usporedba s kliničkim nalazom (9).

Referentni intervali za biokemijske pretrage u Republici Hrvatskoj, koji su načinjeni prema CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*, formerly NCCLS: *National Committee for Clinical Laboratory Standards*) protokolima, nalaze se u sklopu dokumenta Hrvatske ko-

Tablica 2. Kritične razlike češćih biokemijskih i hematoloških parametara

Analit	Kritična razlika (+/-)
Albumin (g/L)	5
ALP (U/L,37°C)	22
ALT (U/L,37°C)	13
Amilaza (U/L,37°C)	18
AST (U/L,37°C)	13
Ukup. bilirubin (umol/L)	10
Ukup. kalcij (mmol/L)	0,2
Kolesterol (mmol/L)	1
CK (U/L,37°C)	90
Kreatinin (umol/L)	17
Glukoza (mmol/L)	1,6
PSA (ug/L)	2,2
Kalij (mmol/L)	0,6
Ukup. proteini (g/L)	6
Natrij (mmol/L)	5
Trigliceridi (mmol/L)	1
TSH (mIU/L)	2,6
Urea (mmol/L)	2,1
Trombociti (x10 <sup>9</sup> /L)	98
Hemoglobin (g/L)	11
Leukociti (x10 <sup>9</sup> /L)	4

more medicinskih biokemičara (HKMB) „Harmonizacija laboratorijskih nalaza“ i mogu se naći na njejoj web stranici (10). Važno je napomenuti da referentni interval čini 95% populacije te da je 5% populacije izvan ovih intervala bez znakova bolesti (Republika Hrvatska prema tome ima oko 200 000 ljudi čije su vrijednosti izvan RI-a).

Za longitudinalnu procjenu laboratorijskog nalaza (koja znači usporedbu trenutnog nalaza s rezultatom prethodno učinjenog nalaza), važno je poznavati kritične razlike (CD, eng. *Critical difference*) za pojedine parametre. CD je apsolutna vrijednost u mjernoj jedinici parametra koja znači promjenu povezanu s promjenom bolesnikova statusa (9). Npr. ako su izmjereni albumini u prethodnom nalazu bili 45 g/L, a u trenutnom nalazu iznose 39 g/L, tada je to značajna promjena u koncentraciji albumina (CD=6 g/L) koja bi trebala biti povezana s promjenom bolesnikova kliničkog stanja. Tablica 2 prikazuje kritične razlike za neke češće biokemijske parametre.

Osim CD-a potrebno je poznavati i vrijeme poluživota ( $t_{1/2}$ ), osobito za proteine i enzime, dakako uz pretpostavku da su učinjeni istom metodom.

Za dobru interpretaciju i longitudinalnu procjenu nalaza, posebno kod bolesnika koji su hospitalizirani, kad pratimo tijek bolesti i učinak terapije, važne su bazalne vrijednosti. One se odnose na rezultate parametara iz uzorka uzetog prije bilo kojeg terapijskog ili dijagnostičkog postupka (9).

### Interferencije

Definicija: djelovanje neke tvari na točnost mjerenja analita koji se određuje analitičkim postupkom. Znači da neke tvari u uzorku mogu u nekoj mjeri promijeniti rezultat analize tako da ga povećavaju ili snižavaju. Ako ostanu neprepoznate, mogu dovesti do nepotrebnog daljnjeg testiranja, netočne dijagnoze i/ili daljnjeg tijeka liječenja s potencijalno lošim ishodom za bolesnika. U tom slučaju interferencije postaju pogriješka. S obzirom na podrijetlo nastanka interferencije se mogu podijeliti u dvije osnovne skupine: endogene (unutarnje) i egzogene (vanjske).

Endogene interferencije su one tvari ili čimbenici koji se fiziološki nalaze u uzorku, a zbog zdravstvenog stanja bolesnika njihova je koncentracija povećana. Na primjer bilirubin, lipidi, proteini, pro-

tutijela (heterofilna protutijela), ali i hemoglobin (u slučajevima intravaskularne hemolize). Povećane koncentracije ovih analita mogu križno reagirati s drugim parametrima koje određujemo (npr. visoki bilirubin može utjecati na koncentraciju kreatinina ili visoki bikarbonati mogu utjecati na koncentraciju klorida).

Egzogene interferencije su one koje su izvana uvedene u bolesnikov uzorak. Ove interferencije uključuju lijekove (osnovna komponenta lijeka, ali i njegovi metaboli i aditivi), otrove, biljne produkte, intravenozne otopine, tvari koje se primjenjuju u terapiji (npr. antitijela). Isto tako mogu potjecati iz epruveta u koje je uzet uzorak, mogu nastati u procesu uzorkovanja, transporta, centrifugiranja, čuvanja uzorka do trenutka analiziranja. Uz to mogu nastati zbog ugruška ili zagađenja uzorka (11).

U praksi je korisnija podjela interferencija na one na koje možemo ili ne možemo utjecati. Primjer za to je hemoliza *in vivo*, interferencija na koju ne možemo utjecati. Pokazatelj *in vivo* hemolize je koncentracija haptoglobina. No hemoliza je najčešće posljedica pogreške nastale u prijeanalitičkoj fazi (nepravilnim postupkom uzorkovanja, odjeljivanja, transporta). Na ovu interferenciju možemo utjecati. Zahtjev za novim uzorkom uglavnom će u potpunosti ukloniti ovu interferenciju. Lipemija je također interferencija koja je vrlo česta i može biti posljedica bolesti te na nju ne možemo utjecati, ali vrlo često je posljedica nepravilne pripreme bolesnika, na što možemo utjecati uzimanjem uzorka prije unosa hrane i pića. Hiperbilirubinemija najčešće je posljedica bolesti i na nju ne možemo utjecati (12, 13).

Osim toga, interferencije mogu biti one koje možemo i ne možemo prepoznati i predvidjeti. Interferencije koje ne možemo prepoznati uglavnom se odnose na heterofilna antitijela u bolesnikovoj krvi, a mogu interferirati u svim imunološkim metodama (14). Ove interferencije uočavamo najčešće tek kod ekstremno odstupajućih vrijednosti koje se ne uklapaju u kliničku sliku bolesnika. Kako bi se mogle pratiti i istražiti, potrebno je svaku nesukladnost laboratorijskog nalaza s kliničkom slikom prijaviti u laboratorij, pri čemu se ponovo naglašava komunikacija liječnik – medicinski biokemičar.

Hemoliza, hiperbilirubinemija (ikterija) i lipemija su najučestalije i jasno prepoznatljive interferencije koje su danas

dobro opisane u uzorcima krvi. Na laboratorijskom nalazu ove interferencije nalaze se opisane u „Napomenama“ i upućuju liječnika na oprez pri interpretaciji nalaza.

### Hemoliza

Hemoliza nastaje razaranjem eritrocita, pri čemu se osim oslobođenog hemoglobina (crvena boja uzorka) iz stanice oslobađaju i ostali analiti koji su fiziološki prisutni u stanicama. Ovisno o stupnju hemolize, tj. broju razorenih eritrocita, pojedini analiti će u uzorku hemoliziranog seruma/plazme biti povišeni.

Tri su osnovna mehanizma interferencija hemolize: 1) Povećanje vrijednosti analita koji se u stanici nalaze u većim koncentracijama i značajni su za interpretaciju nalaza: K, AST, LDH. Primjer povećanja koncentracije analita je kalij, koncentracija kojeg je u stanicama za oko 25 puta veća nego u serumu. Katalitička koncentracija AST-a u eritrocitima je 40 puta veća nego u plazmi, a za LDH čak 160 puta. No utjecaj hemolize na koncentraciju npr. željeza nije izražen u tolikoj mjeri, jer većina željeza u eritrocitu je vezano hemsko željezo, slobodni oblik željeza je neznatan te značajno ne utječe na koncentraciju prilikom razaranja eritrocita. 2) Utjecaj hemolize na spektrofotometrijska mjerenja odnosi se na hemoglobin iz razorenih eritrocita, maksimum apsorpcije kojih su valne dužine (415 nm, 540 nm, 570 nm) na kojima se mjeri većina parametara (ALP, GGT). 3) Molekule oslobođene iz razorenih eritrocita mogu ući u križnu reakciju s pojedinih analitima (npr. oslobođena stanična adenilat kinaza ulazi u križnu reakciju s CK-om, dok pseudoperoksidazno djelovanje oslobođenog hemoglobina ometa određivanje bilirubina) (11).

Hemoliza negativno interferira kod određivanja bilirubina, što znači da hemolizirani uzorak, ovisno o stupnju hemolize, snižava vrijednosti koncentracije bilirubina. Mehanizam interferencije hemolize kod određivanja koncentracije bilirubina je inhibicija boje (azo-spoja) u reakciji određivanja.

Stupanj hemolize u ispitivanom uzorku mjeri se koncentracijom oslobođenog hemoglobina. Utjecaj hemolize na različite parametre je različit te je potrebno utvrditi graničnu koncentraciju oslobođenog hemoglobina, kod koje se značajno mijenja koncentracija ili aktivnost pojedinog parametra. Značajna interferencija

hemolize znači promjene rezultata veće od dopuštenih prema CLIA kriterijima (engl. *Clinical Laboratory Improvement Amendments*, CLIA) (15). U praksi to rezultira neprihvaćanjem uzorka za taj parametar. Tablica 1 navodi najčešće određivane parametre s dopuštenim odstupanjima. Korisni su i objavljeni rezultati takvih ispitivanja koja pokazuju da za pojedine parametre (K, AST, LDH), niske koncentracije slobodnog hemoglobina (<0,5g/L ili lagana hemoliza), značajno povećavaju njihove koncentracije. S druge strane, veći stupanj hemolize može pokazivati statistički značajne promjene u koncentracijama pojedinih parametara, ali te se promjene nalaze unutar dopuštenih odstupanja prema CLIA kriteriju. U tim situacijama povišene vrijednosti postoje, ali budući da su unutar dopuštenog odstupanja bit će izdani uz napomenu procijenjenog stupnja hemolize (16).

Lippi i sur. su pokazali da upotreba formula za korekciju rezultata iz hemolitičnog seruma nije moguća zbog velikih odstupanja (17).

Stupanj hemolize u praksi uglavnom se određuje vizualno. Procjena stupnja hemolize je individualna te može biti precijenjena ili podcijenjena. Osobito je važno naglasiti da vizualna procjena stupnja hemolize može biti ugrožena zbog prisutnosti povišenih koncentracija bilirubina, koju nerjetko nalazimo u neonatalnim uzorcima. Stupanj interferencije gotovo je nemoguće odrediti. Stoga se u praksi često iz opreza spušta granica značenja interferencije hemolitičnog uzorka u smislu njegove prihvatljivosti za pojedine parametre. Razvojem laboratorijske tehnologije novije generacije analizatora danas pružaju mogućnost automatiziranog određivanja serumskih interferencija (12).

Kapilarni uzorci za parametre acidobazične ravnoteže, pedijatrijske uzorke za kompletne krvne slike ili za dijagnostiku, uz bolesnika u hitnoj dijagnostici poseban su problem u smislu interferencija. Interferencije u ovim uzorcima najčešće se uočavaju zbog izrazito promijenjenih vrijednosti, a ponavljaju se kad graniče ili prelaze kritične vrijednosti. Potencijalni utjecaj hemolize u kapilarnim uzorcima otežan je zbog nemogućnosti vizualne procjene i hitnosti izdavanja nalaza. Tako hemoliza i dalje ostaje jedan od najvećih izazova za laboratorijske stručnjake. U slučaju hemolize laboratorijsko bi osoblje uvijek trebalo zatražiti novi uzorak. Ako to nije moguće, odgovornost je labora-

torijskog stručnjaka prenijeti problem liječniku odgovornom za bolesnika te za njega pronaći najbolje moguće rješenje.

### Hiperbilirubinemija (ikterija)

Visoke koncentracije bilirubina u uzorku seruma/plazme mogu interferirati na osnovi dva mehanizama: 1) Utjecaj bilirubina na spektrofotometrijska mjerenja maksimum apsorpcije kojih se nalazi na valnoj dužini 456 nm te ometa one parametre što se očitavaju na tom valnom području. 2) Bilirubin reagira s peroksidazom u enzimskim metodama određivanja (11).

Prema mehanizmu interferencije, a ovisno o njezinom stupnju, ikterija utječe na rezultate sljedećih parametara u smislu a) povećanja vrijednosti: kreatinin, ALP, amilaza i b) u smislu snižavanja vrijednosti: kolesterol, laktati, lipaza, trigliceridi, ukupni proteini, urea, urati.

Granične vrijednosti koncentracije bilirubina koje uzrokuju promjene rezultata pojedinih parametara veće od 10%, nalaze se u propisu proizvođača reagensa.

Određivanje pojedinih parametara u uzorcima s visokim koncentracijama bilirubina moguća je drugim metodama za koje se zna da na njih ne utječe ikterija, kao što su kromatografsko odjeljivanje ili masena spektrometrija. No u svakodnevnom rutinskom radu nije praksa provjeravati rezultate ikteričnih uzoraka ovim metodama (11).

### Lipemija

Lipemični uzorci su uobičajena i relativno česta pojava koja može prouzročiti statistički značajne interferencije u laboratorijskim rezultatima. Još i sad su neriješen problem u kliničkoj kemiji. Najčešće je prisutna nakon uzimanja hrane i pića prije uzorkovanja, ali i u nekim bolešnim stanjima: hipertireoidizmu i hipotireoidizmu, unosu alkohola, dijabetesu, hipertrigliceridemiji, kroničnim bolestima bubrega, pankreatitisu, multiplom mijelomu, primarnoj bilijarnoj cirozi, lupusu. Uz to je prisutna i kod bolesnika na parenteralnoj prehrani ili kod unosa nekih lijekova kao što su inhibitori proteaze u HIV infekcijama, estrogeni ili oralni kotraceptivi (13).

Mehanizam lipemije kao interferencije temelji se na tri osnove: 1) povećava apsorpciju i rasap svjetlosti; 2) umanjuju udio vodene faze u uzorku a time i tvari otopljenih u njoj i 3) učinak podjele na polarnu i nepolarnu fazu (18).

Interferencije zbog lipemije nastaju zbog prisutnosti velikog broja lipidnih čestica (hilomikrona i lipoproteina vrlo niske gustoće – VLDL čestica – engl. *Very Low Density Lipoprotein*). Ove čestice povećavaju rasap svjetlosti i apsorbiraju je te pridonose zamućenju uzorka. Na taj način smanjen je intenzitet svjetla koje prolazi kroz uzorak, što je osnova spektrofotometrijskih metoda određivanja. Rezultati analiziranja mogu biti lažno sniženi ili lažno povišeni, ovisno o tome prati li se porast ili sniženje apsorbancije (11). Ove čestice pokazuju i veliku heterogenost, kako po broju i veličini čestica tako i po sadržaju triglicerida. Zato trigliceridi nisu mjera za stupanj lipemije. Osim toga, ove čestice svojim volumenom umanjuju udio vodene faze u uzorku. Većina parametara nalazi se u vodenoj fazi pa je na taj način smanjen i njihov udio u uzorku. Na kraju, lipidne čestice su nepolarne i u vodenoj fazi dolazi do spontanog odjeljivanja. Na površini uzorka će se nalaziti sloj nepolarne (lipidne) faze.

Objavljena ispitivanja utjecaja lipemije na pojedine parametre pokazala su da značajne promjene i izvan dopuštenih odstupanja se nalaze kod određivanja koncentracija fosfora, kreatinina, ukupnih proteina i kalcija. Značajne promjene unutar dopuštenih odstupanja prema CLIA kriteriju pokazuju koncentracije bilirubina, GGT, glukoze, AST, ALT (13). Povećane koncentracije lipida, ovisno o metodi određivanja, interferiraju pri određivanju amilaze, imunoglobulina, elektrolita (natrij, kalij), hemoglobina, kalcija, lipaze, laktat dehidrogenaze, magnezija, ukupnih proteina, željeza.

Procjena interferencija za pojedine parametre izvan dopuštenih odstupanja prema CLIA kriteriju obveza su proizvođača reagensa. Podatci o tome nalaze se u propisu svakog komercijalnog reagensa.

Utjecaj lipemije može se umanjiti ultracentrifugiranjem lipemičnog uzorka. No mnogi laboratoriji nisu opremljeni ultracentrifugom. Prema rezultatima *Dimeskja i Jonesa* centrifugiranje u mini-centrifugama s velikim brojem okretaja jednako učinkovito umanjuju lipemiju kao i ultracentrifugiranje (19). Ovi rezultati su značajni za rutinski rad u laboratoriju, jer mnogi laboratoriji posjeduju minicentrifuge s velikim brojem okretaja.

### Proteini

Interferencije proteina uglavnom se odnose na interferencije paraproteina

(monoklonskih imunoglobulina). Paraproteini ometaju sve automatizirane analize koje primjenjuju spektrofotometrijske, imunonefelometrijske ili turbidimetrijske metode određivanja. To se događa zbog taloženja paraproteina u reakciji s puferima koji su sastavni dio reagensa navedenih metoda. U literaturi su opisane interferencije koje uključuju ukupni bilirubin, fosfate, GGT, CRP, glukozu, HDL kolesterol. Ukupni proteini u vrlo visokim koncentracijama (> 100g/L) ili onim niskim (< 40 g/L) zbog promjene udjela volumena vodene faze mogu utjecati na rezultate koncentracija elektrolita (11, 20).

### Lijekovi

Interferencije lijekovima, njihovim metabolitima i aditivima laboratorijski stručnjak ih često ne prepoznaje, jer podatak o terapiji se najčešće ne nalazi na zahtjevu – uputnici. Istraživanje laboratorijskog stručnog osoblja o bolesnikovim terapijskim podatcima najčešće se događa tek kad su dobiveni rezultati određivanja izvan granica referentnog intervala ili kad se dobiveni rezultati liječniku ne uklapaju u kliničku sliku bolesnika. Utjecaji pojedinih lijekova, njihovih metabolita i aditiva na pojedine parametre su mnogobrojni. Najbolja i sveobuhvatna baza podataka interferencija lijekova nalazi se u knjizi *Young's textbook* (21) ili online *Young's Effects Online Database*.

### Interferencije u imunološkim metodama

Imunološke metode su vrlo specifične i osjetljive metode i uglavnom se primjenjuju za određivanje hormona, tumorskih biljega, lijekova, metabolita, troponina, seroloških pretraga. U ovim metodama hemoliza nema značajnijeg utjecaja, osim u slučajevima određivanja troponina. Kod ikteričnih i lipemičnih uzoraka rezultate treba oprezno interpretirati. Stupanj ikterije i lipemije djelomično se može smanjiti razrjeđivanjem uzorka. Pritom treba imati na umu da velika razrjeđenja multipliciraju i grješku. Najčešća interferencija u imunološkim metodama je križna reakcija sa spojevima slične strukture: protutijela/autoprotutijela (npr. protutijela na štitnjači), heterofilna protutijela (najčešća HAMA eng. *Human anti-mouse antibodies*), reumatoidni faktor (RF) (14).

Važno je znati da kod vrlo visokih koncentracija antigena koji se određuje

može doći do pojave prozonskog učinka (tzv. „Hook effect“), koji treba potvrditi u seriji razrjeđenja. Učinak nastaje uglavnom (ali ne isključivo) u metodama kod kojih se sve tri sastavnice (antigen, protutijelo, biljeg) inkubiraju istodobno. To znači da u reakciji ostaje višak analita koji nije ušao u sastav kompleksa analit-protutijelo. Posljedica je lažno smanjena vrijednost ispitivanog analita (koja može biti čak unutar referentnih intervala) (14).

Utjecaj tvari iz samog uzorka poznat je kao „utjecaj matriks“, a uključuje tvari iz uzorka seruma koje mogu maskirati ciljani antigen ili protutijelo koje određujemo. U ovu skupinu ubrajaju se i utjecaj antikoagulansa ili separator gela u epruvetama, ali i heparinska terapija koja može maskirati troponin I. koji želimo odrediti (14).

#### *Što sve treba znati za pravilnu interpretaciju nalaza*

U pedijatrijskoj laboratorijskoj medicini navedene interferencije utječu jednako na rezultate kao i u odrasloj populaciji. Ovisno o djetetovoj životnoj dobi i pojedine interferencije su učestalije nego u odrasloj populaciji. Na primjer, pojava lipemičnih uzoraka česta je u dojenačkoj dobi, kao i ikterija u novorođenačkoj. Isto tako, postupak uzimanja uzoraka krvi zahtijeva dobro uvježbano medicinsko osoblje, kako bi se smanjila učestalost hemoliziranih uzoraka nastala zbog nepravilnog postupka uzorkovanja. Kapilarni uzorci krvi, koji se često rabe u pedijatrijskoj populaciji, „skrivaju“ interferencije hemolize, lipemije i ikterije. Zbog kapilarnog uzorka pune krvi i najčešće hitnosti nalaza, ostaju neprepoznate, pa zahtjev za ponavljanjem uzorkovanja slijedi tek kod značajnog odstupanja od RI-a i nesukladnosti s kliničkim nalazom liječnika. RI za pedijatrijsku populaciju obveza je svakog laboratorija. Laborato-

rijski informacijski sustav (LIS) za svaki laboratorijski parametar prikazat će RI prema dobi i spolu djeteta kako je navedeno u podacima za bolesnika. RI je harmoniziran na području Republike Hrvatske za svaku životnu dob: od rođenja, adolescencije, odraslih do starosti. U pedijatrijskoj populaciji referentni intervali za svaki pojedini parametar podijeljeni su prema dobnim skupinama. Dobne skupine definirane su prema fiziološkim promjenama svakog parametra nastalim zbog rasta i razvoja.

I na kraju, liječnik ne mora nužno znati sve navedene pojedinosti, ali treba znati da one postoje, da eventualni zahtjev za ponavljanjem uzorkovanja znači nemogućnost interpretacije rezultata, uzimajući u obzir sve prepoznate pogreške i moguće interferencije koje su veće od 10%. Treba znati da su napomene na nalazima namijenjene lakšoj i boljoj interpretaciji nalaza te da svaku nesukladnost laboratorijskog nalaza treba javiti stručnom osoblju u laboratorij, kako bi se zajednički pronašla najbolja rješenja za bolesnika, a nesukladnost dokumentirala.

Poznavanje i prepoznavanje interferencija značajno smanjuje broj i udio pogješaka izvananalitičke faze, što pridonosi boljoj kakvoći cjelokupne zdravstvene skrbi. Interferencije postaju pogreška ako se ne poznaju i ne prepoznaju.

Autori izjavljuju da nisu bili u sukobu interesa.  
Authors declare no conflict of interest.

#### LITERATURA

1. Timmermans S, Mauck A. The promises and pitfalls of evidence-based medicine. *Health Aff (Millwood)*. 2005;24:18-28.
2. International Organization for Standardization. ISO/PDTS 22367. Medical laboratories: reducing error through risk management and continual improvement: complementary element. ISO, Geneva, 2005:9.
3. Bilić-Zulle L, Šimundić AM, Šupak Smolčić V, Nikolac N, Honović L. Učestalost pojedinih postupaka izvananalitičke faze laboratorijske dijagnostike

u Hrvatskoj - presječno anketno istraživanje. *Biochem Med*. 2010;20:64-74.

4. Kalra J. Medical errors: impact on clinical laboratories and other critical areas. *Clin Biochem*. 2004; 37:1052-62.
5. Plebani M. Exploring the iceberg of errors in laboratory medicine. *Clin Chem Acta*. 2009;404: 16-23.
6. Plebani M, Carraro P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. *Clin Chem*. 1997;43: 1348-51.
7. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Pre-analytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med*. 2006;44: 358-65.
8. Lippi G. Governance of preanalytical variability: Travelling the right path to the bright side of the moon? *Clin Chim Acta*. 2009;404:32-6.
9. Čvorišćec D, Čepelak I. Štrausova medicinska biokemija. 3. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2009.
10. Harmonizacija laboratorijskih nalaza. Available at: <http://www.hkmb.hr>.
11. Dimeski G. Interference testing. *Clin Biochem Rev*. 2008;29: S43-8.
12. Simundić AM, Topic E, Nikolac N, Lippi G. Hemolysis detection and management of hemolysed specimens. *Biochem Med*. 2010;20:154-9.
13. Calmarza P, Cordero J. Lipemia interferences in routine clinical biochemical tests. *Biochem Med*. 2011;21:160-6.
14. Dodig S. Interferencije svojstvene kvantitativnim imunokemijskim metodama. *Biochem Med*. 2009;19:50-62.
15. Clinical Laboratory Improvements Amendments of 1988. Final Rule. Laboratory Requirements. Federal Register. 1992;57:7002-288.
16. Koseoglu M, Hur A, Atay A, Cuhadar S. Effects of hemolysis interference on routine biochemistry parameters. *Biochem Med*. 2011;21:79-85.
17. Lippi G, Avanzini P, Pavesi F, Bardi M, Ippolito L, Aloe R, Favalaro EJ. Studies on in vitro hemolysis and utility of corrective formulas for reporting results on hemolyzed specimens. *Biochem Med*. 2011;21:297-305.
18. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analysis. *Clin Chem*. 1994;40:1996-2005.
19. Dimeski G, Jones BW. Lipaemic samples: Effective process for lipid reduction using high speed centrifugation compared with ultracentrifugation. *Biochem Med*. 2011;21:86-94.
20. Dimeski G. Effects of hyperlipidemia on plasma sodium, potassium, and chloride measurements by an indirect ion-selective electrode measuring system. *Clin Chem*. 2006;52:155-6.
21. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 5<sup>th</sup> ed. Washington DC: AACC; 2000.

*S u m m a r y*

LABORATORY MEDICINE IN PEDIATRICS: INTERFERENCE OF LABORATORY ANALYSIS AND INTERPRETATION  
OF LABORATORY TEST RESULTS

*J. Leniček Krleža*

*Laboratory work is a complex process that in the overall treatment of patients aims to report the results of laboratory tests. Issued report is relevant by itself and has become a key document on making medical decisions; it must above all be credible and properly interpreted. Correct interpretation requires good knowledge and recognition of all the potential factors that may affect the result of laboratory parameters. This paper presents an overview of the possible interferences and errors. The intention is to assist in the interpretation of laboratory test results, with special reference to pediatric laboratory medicine. Knowing and recognizing the possible interference would significantly reduce the proportion of errors and increase the overall quality of health care.*

Descriptors: LABORATORY MANUALS; MEDICAL ERRORS; BIOLOGICAL MARKERS; CHILD; CHILD, PRESCHOOL

*Primljeno/Received: 6. 2. 2012.*

*Prihvaćeno/Accepted: 30. 4. 2012.*