

Kapitola 2 Laboratorní vyšetření

Lékař disponuje pro určení diagnózy celou řadou prostředků. Mezi doplňková, čili komplementární (většinou však nezbytná) vyšetření, patří *vyšetření laboratorní*. Jedno z nejčtenějších laboratorních vyšetření je vyšetření *biochemické*. Tato kapitola zejména popisuje co je to laboratorní (především biochemické) vyšetření, z jakých částí se skládá, jaký materiál je předmětem analýzy, jak se tento materiál získává a dopravuje do laboratoře, jak může být výsledek ovlivněn ještě před analýzou, jakých chyb se může laboratorní pracovník dopustit před analýzou, při analýze i po ní.

Jak tyto chyby omezují na minimum moderní technika, včetně techniky výpočetní, zmiňuje kapitola 23.

2.1. Biochemické vyšetření

Biochemické vyšetření vládne celou řadou, vesměs velmi pozitivních, vlastností:

- informuje o metabolických funkcích, jejichž postižení je podkladem většiny chorob
- má široký rozsah (existuje široké spektrum či paleta analýz neboli testů)
- je dostatečně specifické i citlivé (ve vysokém procentu dokáže rozlišit zdraví a nemoc)
- je kvantifikovatelné (lze ho vyjádřit číslem)
- je relativně snadno dostupné (biologickým materiálem je vzorek krve, moče, případně slin či potu; jiné tělní tekutiny jsou již dostupné hůře, což platí např. pro mozkomíšní mok)
- nezatěžuje příliš pacienta (zátěž je v podstatě pouze odběr biologického materiálu).

Má svou typickou skladbu, složení, ve kterém jednotlivé části na sebe navazují a vzájemně se ovlivňují. Chyba na začátku ovlivní výsledek na konci (výsledek je zkreslený, nesprávný) a naopak, špatný výsledek (i špatná interpretace) ovlivní začátek (požadování jiného, zbytečného vyšetření, opakování analýzy apod.).

Biochemické vyšetření nelze omezit pouze na tu část, kde se provádí konkrétní chemická analýza, tedy na část analytickou. Do biochemického, nebo lépe, klinicko-laboratorního vyšetření je nutno zahrnout i část, která se týká přípravy pacienta na odběr, vlastní odběr, dopravu biologického vzorku, jeho příjem a zpracování (předpřípravu) ve zdravotnické laboratoři, vlastní analýzu, případnou reanalýzu, ověření výsledku (verifikaci), zařazení výsledku do souvislostí (s diagnózou apod.) a interpretaci výsledku.

Součástí každého biochemického vyšetření

jsou tak části

- preanalytická
- analytická
- postanalytická.



Část preanalytickou lze dále rozdělit na část

mimolaboratorní (prepreanalytickou) a *laboratorní* (preanalytickou), podobně tak část postanalytickou na *laboratorní část* (postanalytickou) a *mimolaboratorní část* (postpostanalytickou).

2.1.1. Dělení biochemických vyšetření

Biochemická vyšetření lze rozdělit podle různých hledisek. Zejména je to dělení podle *indikace a interpretace*, podle *informačního obsahu a zaměření a účelu* biochemického vyšetření.

Podle *indikace a interpretace* rozeznáváme biochemické vyšetření

- *základní* (základní hodnocení zdravotního stavu, diagnostika, terapie, monitorování terapie)
- *speciální* (pomoc při složitější diferenciální diagnostice, vybrané metabolické funkce - hodnocení, monitorování hladin léků, sledování určitých klinických situací - vnitřní prostředí, aktuální metabolické a energetické situace, stav výživy apod., vyhodnocování bilančních vyšetření)
- *vysoce speciální* (vzácné či neobvyklé diagnózy, složité diferenciální diagnostiky, problémy, složité funkční vyšetření, monitorování speciálních léků, komplexní metabolické sledování, bilance)

Podle *informačního obsahu* známe biochemické vyšetření

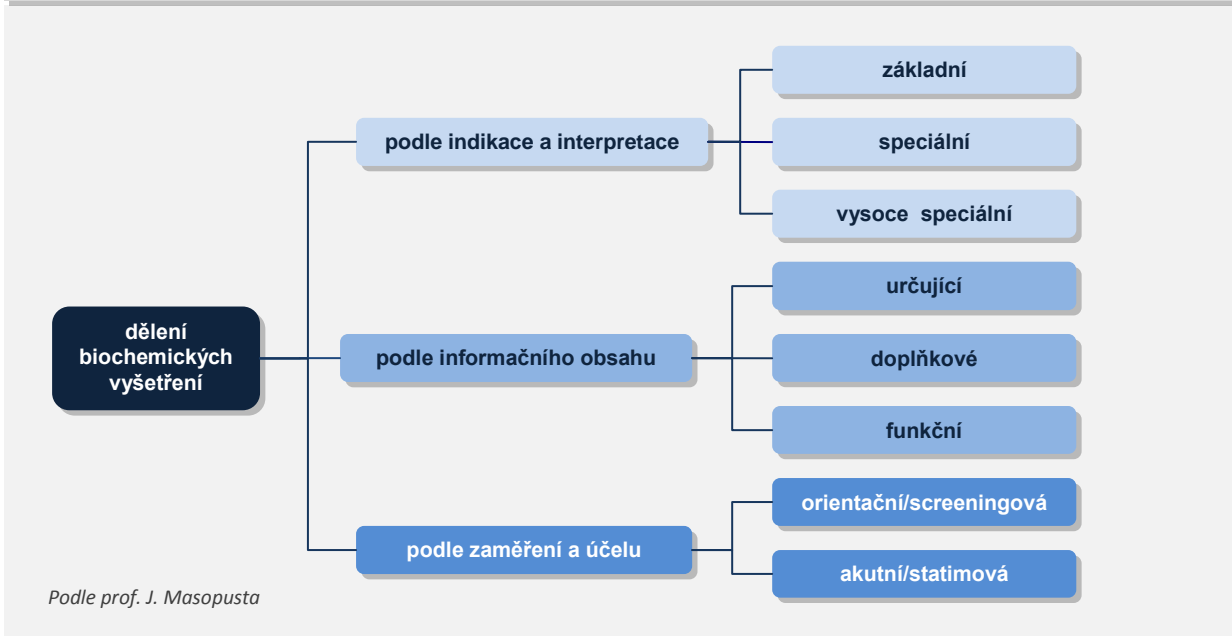
- *určující* (rozhodující význam při diagnóze či terapii)
- *doplňková* (upřesňují informaci o zdravotním stavu)
- *funkční* (sledování změn analytu při stimulaci určité metabolické funkce, většinou v časové závislosti)

Podle zaměření a účelu lze dělit biochemická vyšetření na

- *orientační* či *screeningová* (rychlá orientace lékaře, provedení přímo v ordinaci, u lůžka, na návštěvě - testační proužky na moč, glukosu)
- *akutní, statimová, STAT, STATIM, urgentní, emergentní* (provádějí se ve zvlášť indikovaných případech neprodleně po dodání biologického materiálu, v kteroukoliv dobu)

Zařazení do jednotlivých skupin je relativní, záleží na konkrétní klinické situaci.

Schéma rozdělení biochemických vyšetření podle různých hledisek



Někdy může být výhodné sdružovat biochemická vyšetření do *souborů*, které představují stanovení několika analytů současně, zvyšují tak informační hodnotu výsledku a umožňují úplnější posouzení zdravotního stavu pacienta i průběhu léčení. Sdružování jednotlivých biochemických vyšetření do souboru je však nutno provádět cíleně, s představou výsledné interpretace. Rovněž biochemické soubory lze rozdělit do několika skupin.

Typy biochemických souborů

- *obecný* (screeningový): používá se, je-li málo informací o nemocném, slouží k všeobecné orientaci o stavu pacienta a k předběžné diagnóze
- *cílený* (orgánový): slouží ke zhodnocení stavu určitého orgánu nebo systému (ledvin, jater, plic...)
- *syndromově specializovaný*: slouží k ověření diagnózy určitého syndromu, skupiny syndromů, k diferenciální diagnostice v rámci určité skupiny chorob, k odhadu "metabolického rizika" určitého onemocnění (dědičné poruchy metabolismu, riziko urolitiázy)

Všechny soubory většinou obsahují vyšetření základní, doplňková či funkční a speciální, případně i vysoce speciální. Názory na používání souborů nejsou jednotné. Za moderní obdobu biochemického souboru lze snad považovat *čipové* či *mikroarrayové (testovací) panely*.

Má-li biochemické vyšetření sloužit svému účelu, musí mít hodnotu skutečné informace, a tu bude mít, bude-li

- cíleně a účelně indikováno
- spolehlivé
- výsledek co nejrychleji dostupný
- výsledek kvalifikovaně interpretován.

Z výše uvedených čtyř požadavků jsou prostřední dva záležitostí klinické laboratoře, první požadavek (indikace) je záležitostí ošetřujícího lékaře (s případnou účastí klinického biochemika při konzultaci s klinikem), poslední požadavek (interpretace) je také záležitostí indikujícího lékaře (s případnou účastí klinického biochemika při konzultaci s klinikem).

Je jasné, že i indikace biochemického vyšetření musí vyhovovat určitým požadavkům.

Indikace biochemického vyšetření

- má být cílená, má řešit konkrétní cíl
- objednavatel (lékař) by měl znát význam požadovaného testu a jeho typický průběh u daného onemocnění
- opakování analýzy (tj. opětovný požadavek na stejnou analýzu/vyšetření) by mělo být podřízeno rychlosti metabolického obratu daného analytu a změnám v klinickém stavu pacienta

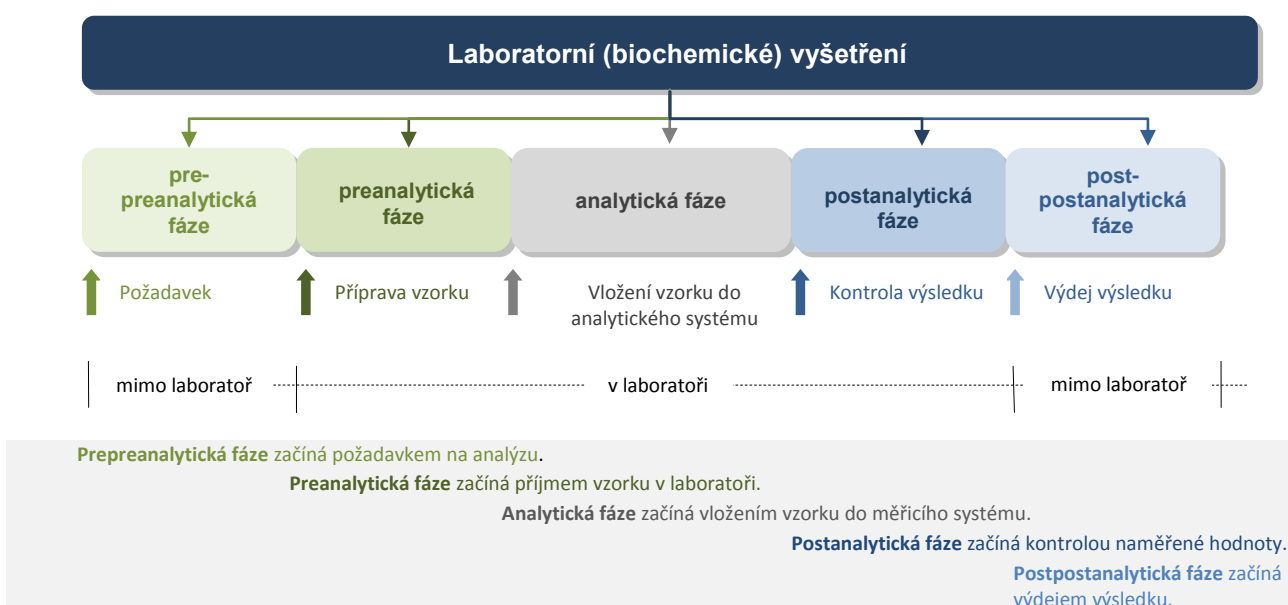
Na závěr povídání o biochemickém vyšetření cituji autory M. Engliše a J. Šochmana:

„Diagnóza onemocnění, sledování jeho průběhu, odhad rizika jeho nepříznivého vývoje a rozhodování o volbě optimální léčby jsou vždy výsledkem komplexního hodnocení všech získaných informací. Laboratorní vyšetření může mít v jednotlivých případech velmi malý nebo naopak rozhodující význam. Samo o sobě však nestačí“.

M. Engliš, J. Šochman, *Srdeční troponiny v klinické praxi, Druhé, přepracované a doplněné vydání, Roche, Praha 2009*

2.1.2. Fáze biochemického vyšetření

Na následujícím obrázku jsou schematicky znázorněny části biochemického vyšetření (podrobnější schéma je uvedeno v [Dodatku](#)). Pokud bychom hovořili obecně o libovolném laboratorním vyšetření, pojem „biochemické“ vynecháme.



Kromě *analytické fáze*, která je předmětem kapitoly 3, bude o ostatních částech biochemického vyšetření pojednáno v této kapitole.

Prakticky každá z těchto fází nějakým způsobem ovlivňuje výsledek analýzy a způsobuje variabilitu analytických dat. Jsou to zejména odchylky, jejichž původ vězí v preanalytické a analytické fázi.

Preanalytické odchylky odrážejí vliv zacházení se vzorkem na hladinu analytu před tím, než byl vložen do analytického systému. Typickými zdroji preanalytických změn v hladině analytu jsou způsob a provedení odběru, transport materiálu, doba stání vzorku před oddělením séra/plazmy od buněk, doba odstředování a podmínky skladování.

Je třeba si uvědomit, že vlastnosti vzorku zpracovávaného v laboratoři (*in vitro*) by měly co nejvíce odpovídat jeho vlastnostem v živém organismu (*in vivo*).

Preanalytická fáze je soubor všech postupů a operací, kterými projde vzorek analyzovaného materiálu od okamžiku, kdy je analýza požadována, do okamžiku, kdy je vzorek vložen do analytického měřicího systému.

O důležitosti této části biochemického vyšetření svědčí např. skutečnost, že byl zahájen čtyřletý projekt *SPIDIA*, zabývající se řešením standardizace a přístupů k preanalytickým postupům v *in-vitro* diagnostice, podpořený Evropskou unií - podrobnosti naleznete na www.spidia.eu.

Stručně lze napsat, že preanalytická fáze obsahuje tyto etapy:

přípravu pacienta	prepreanalytická fáze	tvoří cca 21% laboratorního dg procesu
odběr biologického materiálu		
dopravu materiálu do laboratoře		
příjem materiálu v laboratoři	preanalytická fáze	tvoří cca 37% laboratorního diagnostického procesu
skladování biologického materiálu v laboratoři		
přípravu biologického materiálu k analýze		

Postanalytická fáze začíná kontrolou výsledku před jeho vydáním. Postupy před jeho kontrolou jsou uvedeny v jiných kapitolách, zejména v kapitole 3. Laboratorní část postanalytické fáze obsahuje zejména uchování vzorků po analýze (archive) pro případnou reanalýzu nebo analýzu doordinovaných testů (je-li to dle zásad preanalytické fáze možné) a kontrolu a verifikaci výsledků a jejich uvolnění.

2.2. Prepreanalytická část

Prepreanalytická část obsahuje

- vyslovení požadavku na analýzu, resp. zjištění potřeby analýzy
- objednání analýzy
- přípravu pacienta
- odběr biologického vzorku, což dále předpokládá
 - identifikaci pacienta
 - správně provedený odběr
 - správné označení odběrových nádobek
 - je-li potřeba tak promíchání s aditivou v nádobce (antikoagulancia, akcelerátory srážení)
- uchování biologického materiálu před transportem podle požadavků na daný materiál

V této fázi preanalytické části jsou zúčastněni zejména *ošetřující lékař a zdravotní sestra*, případně další zdravotnický personál a, samozřejmě, sám *pacient*. Úloha laboratorního personálu v této fázi je především edukační.

2.2.1. Příprava pacienta

Obecně by pacient před odběrem biologického materiálu měl zachovávat stejný režim, jako v jiné dny. V některých případech je potřeba upravit dietu, tj. stravování (např. při sledování *tukového metabolismu*), případně i pohybový režim aj. (sledování *diabetu*), atd. Názory na tuto oblast se ovšem vyvíjejí a mnohdy jsou přijatá opatření revidována.

Ošetřující lékař by měl pacienta podrobně seznámit s podmínkami odběru a požadovat na něm zachování nutné přípravy. Tuto úlohu může převzít i zdravotní sestra. Je žádoucí i následná kontrola splnění těchto podmínek. Příprava hospitalizovaných pacientů je v rukou nemocničního personálu.

2.3. Odběry biologického materiálu

Odběr biologického materiálu může zásadním způsobem ovlivnit konečný výsledek laboratorní analýzy. I když se jedná o invazivní zákrok, neměl by pacienta zbytečně traumatizovat: uvádí se, že přes 47% celkového počtu pacientů tvoří pacienti mladší pěti let a starší 65 let. Odběr by i s ohledem na tuto skutečnost měl být proto maximálně šetrný. Moderní odběrové soupravy při technicky správném provedení odběru toto zajišťují, rovněž tak zajišťují i minimální ovlivnění výsledku odběrem.

I když je dále v textu celkem podrobně popsán postup odběru, včetně odběrových systémů, je třeba uvést, že odběry jsou výhradní doménou klinického personálu (zdravotní sestry, lékaři), laboratorní pracovníci biologické vzorky neodebírají. Přesto je pro laboratorní pracovníky dobré seznámit se s odběrovými systémy i způsoby odběru.

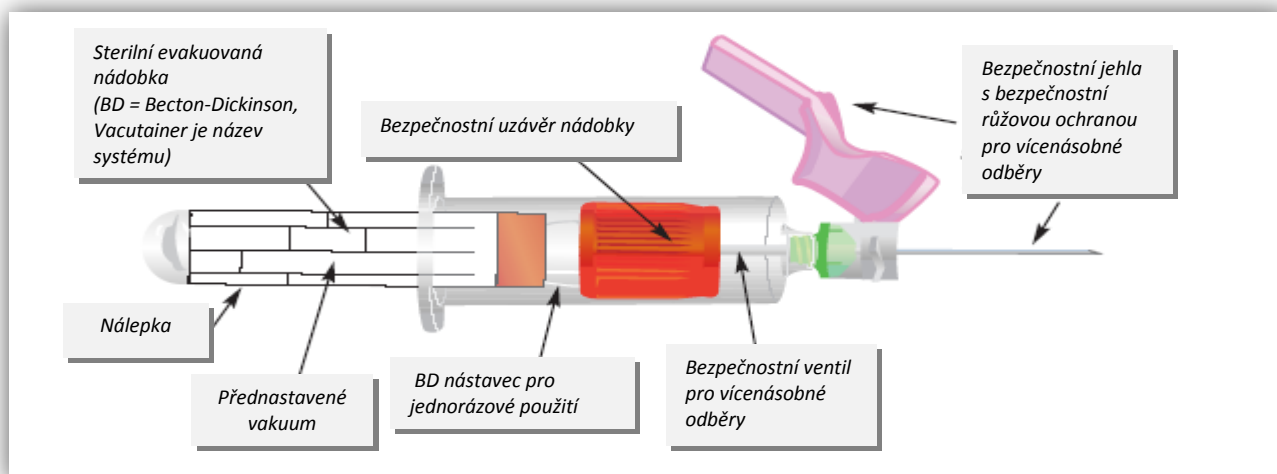
2.3.1. Odběrové systémy

Moderní odběrové systémy určené k odběrům *krve* jsou *uzavřené odběrové systémy*. Uzavřené systémy představují bezpečné odběry pro pacienty i personál. Nedochozí k přímému styku s odebíraným materiálem, umožňují, mimo jiné, využít jeden vpich pro více odběrů pro různá laboratorní pracoviště a různé odbornosti. Jsou vyráběny z materiálu na jedno použití, snadno spalitelného, šetří tak vodu, energii a personál, nutně k mytí laboratorního skla. Kromě plastových však existují i skleněné ekvivalenty odběrových nádobek. Uzavřené systémy se používají téměř výhradně, pokud však z nějakých důvodů nelze tento systém použít (např. pro malé děti), užije se *systém otevřený*.

Uzavřený odběrový systém pro odběry krve

je tvořen odběrovou nádobkou, jehlou a odběrovým nástavcem. Do systému patří i turniket (škrtdlo) a nádobky na použité jehly a nástavce. Existuje spousta dalších prvků umožňujících různé vzájemné kombinace (např. integrace s transfuzním systémem), které vedou k úspoře práce zdravotnického personálu a maximálnímu šetření pacienta. V odběrových nádobkách různých velikostí je továrně připraveno definované vakuum, pomocí kterého se nabere přesné množství krve, což je důležité zejména tam, kde jsou v odběrové nádobce přítomna protisrážlivá činidla (antikoagulancia), případně jiná aditiva, tj. přísady (akcelerátory srážení apod.), vyžadující zachování přesného poměru aditivum/vzorek.

Uzavřený odběrový systém *Vacutainer*[®] firmy Becton-Dickinson



Různé typy nádobek jsou odlišeny barevným uzávěrem indikujícím typ odběrové nádobky. Např. nádobky pro odběr séra (bez aditiva nebo s aktivátorem srážení) mívají **červený** uzávěr, pro plazmu na krevní obraz **fialový** (s obsahem EDTA), pro hemokoagulace **modrý** (s citrátem sodným) atd. I když různí výrobci dodávají víceméně shodná barevná označení těchto uzávěrů (viz ilustrační materiály dále v textu), jednotný systém barevného kódování neexistuje.

Kromě uvedených běžných typů odběrových nádobek existují i nádobky pro speciální odběry (nádobky se stabilizátorem pro odběr hormonů, zkumavky s velmi nízkým obsahem kovů, tzv. *metal free*, pro stanovení stopových prvků, mikrozkušavky pro odběry kapilární krve aj.), rovněž odlišené barevným uzávěrem.

Některé uzavřené systémy používají pístovou techniku (*Sarstedt*, ukázka systému v *Dodatku* na str. [2-23](#)), tzn., že v nádobce je

píst, který je možno použít "klasicky", tj. pozvolným tahem za píst po vpichu nabrat patřičné množství krve jako klasickou injekční stříkačkou, nebo lze i v této



Sarstedt
odběrová nádobka s pístem

nádobce vytvořit vakuum: zatažením za píst a jeho zalomením vznikne v nádobce vakuum a odběr může proběhnout stejným způsobem jako u továrně evakuovaných nádobek. Jedná se tedy o smíšený systém.

Nádobky mohou obsahovat různé příměsi, např. akcelerátory srážení nebo naopak protisrážlivá činidla (antikoagulancia), případně separační zrna (krasten) nebo separační gely, které umožňují po oddělení séra (plazmy) od krvinek centrifugací, ponechat obsah nádobek bez oddělení séra (plazmy), protože separační gel zaručuje nepropustnost i pro ionty po dobu 48 hodin (podle typu nádobky).

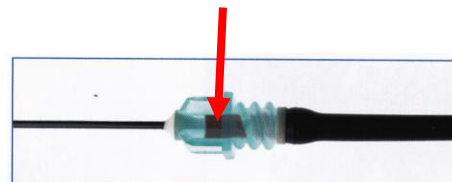


Mikrozkušavky
na odběry kapilární krve
firma *greiner bio-one*

Jehly hadičky, nástavce




Odběrová nádobka, nástavec, jehly, „motýlek“



Odběrová jehla Vision®Plus (fa Greiner)

Název odkazuje na skutečnost, že odebírající personál vidí, zda úspěšně pronikl do cévy nebo ne (šipka ukazuje na aspirovanou krev)



Helping all people live healthy lives

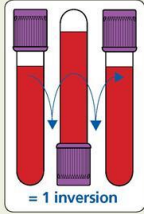
BD Vacutainer® Order of Draw for Multiple Tube Collections

Designed for Your Safety Reflects change in CLSI recommended Order of Draw (H3-A5, Vol 23, No 32, 8:10.2)

Closure Color	Collection Tube	Mix by Inverting
BD Vacutainer® Blood Collection Tubes (glass or plastic)		
	• Blood Cultures - SPS	8 to 10 times
	• Citrate Tube*	3 to 4 times
or	• BD Vacutainer® SST™ Gel Separator Tube	5 times
	• Serum Tube (glass or plastic)	5 times (plastic) none (glass)
	• BD Vacutainer® Rapid Serum Tube (RST)	5 to 6 times
or	• BD Vacutainer® PST™ Gel Separator Tube With Heparin	8 to 10 times
	• Heparin Tube	8 to 10 times
or	• EDTA Tube	8 to 10 times
	• BD Vacutainer® PPT™ Separator Tube K ₂ EDTA with Gel	8 to 10 times
	• Fluoride (glucose) Tube	8 to 10 times

Note: Always follow your facility's protocol for order of draw

Handle all biologic samples and blood collection "sharps" (needles, lancets, ear adapters and blood collection sets) according to the policies and procedures of your facility. Obtain appropriate medical attention in the event of any exposure to biologic samples (for example, through a puncture injury) since they may transmit viral hepatitis, HIV (AIDS), or other infectious diseases. Utilize any built-in used needle protector if the blood collection device provides one. BD does not recommend reusing used needles, but the policies and procedures of your facility may differ and must always be followed. Discard any blood collection "sharps" in biohazard containers approved for their disposal.



BD Technical Services
1.800.631.0174

BD Customer Service
1.888.237.2762

www.bd.com/vacutainer

1 Becton Drive Franklin Lakes, NJ 07417 www.bd.com/vacutainer

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company © 2010 BD Franklin Lakes, NJ, 07417 1/10 V55729-6

Odběrový systém fa Becton-Dickinson BD Vacutainer®

Plakát firmy Becton-Dickinson ukazuje barevná značení (levý sloupec) nejčastěji používaných odběrových nádobek (prostřední sloupec) a způsob míchání obsahu nádobek (pravý sloupec). Ve spodní části plakátu je naznačeno, že jedním otočením (1 inversion) je miněno převrácení nádobky uzávěrem dolů a navrácení zpět. Promíchání obsahu nádobky s aditivou představuje důležitou součást prepreanalytické fáze.

Zkumavky SST™ tj. Serum Separation Tubes, mají vylepšený separační gel a jsou určeny k separaci séra.

Zkumavky PST™ tj. Plasma Separation Tubes, mají vylepšený separační gel a jsou určeny k separaci plazmy.

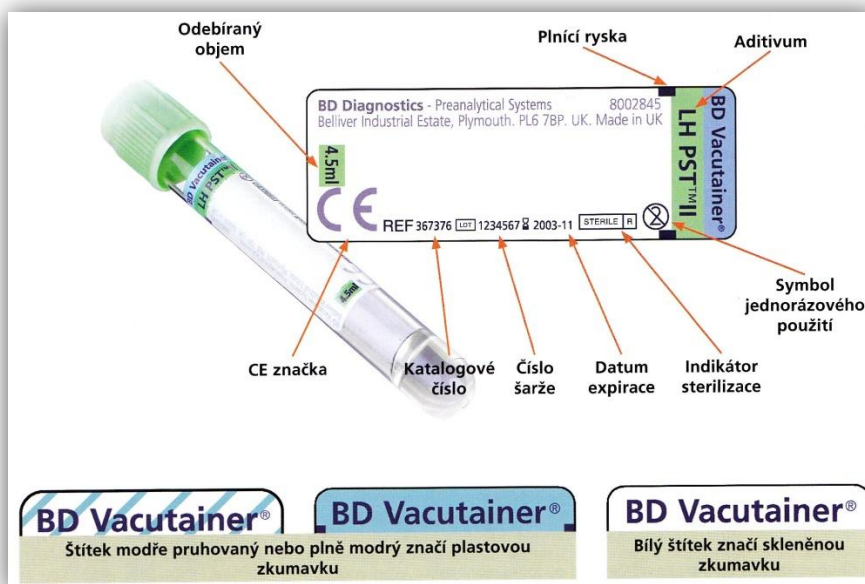
Zkumavky PPT™ tj. Plasma Preparation Tubes jsou určeny pro odběr venózní krve a přípravu nezředěné plazmy pro molekulárně biologická a další vyšetření, která vyžadují použití nezředěné plazmy.

Nejznámější a většinou i nejužívanější odběrové systémy jsou od firem Greiner (Vacuette®), Beckton-Dickinson (Vacutainer™), Sarstedt (Monovette®) a Terumo (Venosafe™).

Podrobný leták s jednorázovým odběrovým materiálem fy Greiner je k nahlédnutí [zde](#), odběrové nádoby firmy Sarstedt [zde](#), materiál fy Beckton-Dickinson [zde](#) případně [zde](#) a fy Terumo [zde](#). V *Dodatku* této kapitoly jsou pro srovnání uvedena další barevná značení uzávěrů odběrových nádobek od výrobců Beckton-Dickinson (BD Vacutainer), Therumo a Sarstedt (S-Monovette®). Jak již bylo uvedeno, určité sjednocování zde lze pozorovat, ale jednotný systém barevného značení to není.

Mnoho informací obsahuje i *nálepka/štítek* na odběrové nádobce. Velmi důležité je např. *datum expirace*.

Příkladem může sloužit obrázek nálepky určené pro odběrovou nádobku firmy Becton-Dickinson (BD Vacutainer®):



Moč se většinou sbírá po určitý časový interval,

nejčastěji po dobu 24 hodin, tj. celý den, do čistých nádob (džbánů), případně do nádob s konzervační či jinou přísadou (např. HCl pro okyselení). Po promíchání celého množství a změření objemu se odlije vzorek do vzorkové nádoby (zkumavky) opatřené (většinou) žlutým víčkem (podrobnosti v *Kapitole 5*) a tento vzorek je dopraven do laboratoře. Existuje i možnost bezkontaktního mechanického náběru vzorku moči ze sběrné nádoby (viz obrázek na další straně), potom i v tomto případě se jedná o uzavřený odběrový systém.



Odběrový systém pro sběr moči fy Greiner Bio-One GmbH

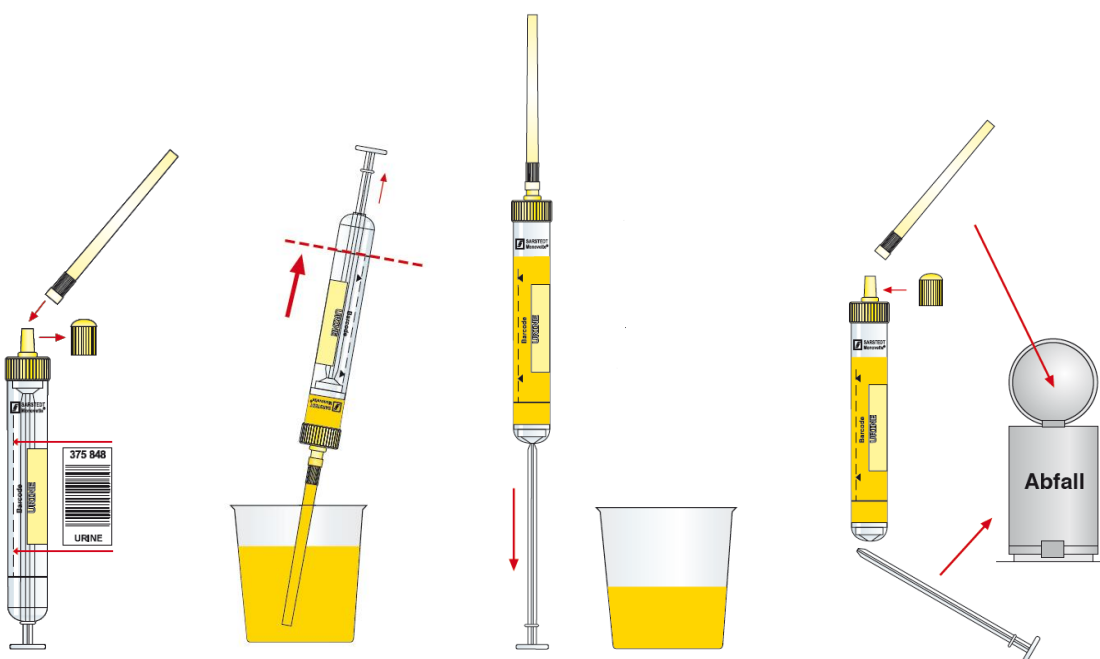


Odběr vzorku moči z odběrové nádoby



Další typy kontejnerů a odběrových pomůcek

Firma Sarstedt nabízí kompletní soupravy na odběr moči, přičemž vzorek moči lze odebrat ze sběrné nádoby, z katétru apod.



Na obrázcích je naznačen **postup odběru vzorku moče do odběrové nádoby Urine-Monovette®** ze sběrné nádoby (zleva):

- řádné nalepení štítku, odkrytí ústí nádoby, nasazení špičky;
- nasátí vzorku moče (po rysku na nádobce);
- dotáhnutí pístu nadoraz (vyprázdnění špičky);
- odlomění táhla pístu, odstranění špičky a uzavření ústí nádoby (použité nepotřebné věci dány do kontaminovaného odpadu).

(Z materiálů firmy Sarstedt)

Další biologické materiály,

např. pot, slzy, se mohou odebírat poněkud obtížněji, zvl. vzhledem k jejich množství. Často se nechá materiálem nasáknout filtrační papír, který se eluuje v příslušném elučním roztoku (pufr, fyziologický roztok).

Stolice se odebírá do plastových jednorázových nádobek.

Pro některá vyšetření existují speciální odběrové nádoby (viz např. kapitola 6 *Vyšetřování trávicího ústrojí str. 6-10,*).



Odběrová nádobka **Vitrum®**
na vzorek stolice

Odběry některých dalších tělesných tekutin jsou zmíněny v kapitole 15, *Mozkomíšňní mok a jiné tělní tekutiny, str. 15-2 a 15-15*).

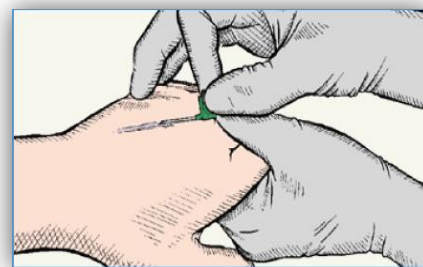
2.3.2. Odběry krve

Vlastní odběry krve již netvoří součást výuky laborantů. Odběry jsou prováděny zásadně lékařem nebo zdravotní sestrou, ve zdravotnické laboratoři se přijímá již odebraný materiál. Přesto není na škodu se o odběrech alespoň částečně zmínit. Pro odběry vzorků krve platí některé obecné zásady:

- mnohé analyty mění koncentraci v krvi během dne (vykazují tzv. *cirkadiánní fluktuaace* v hladině), pro omezení vlivu těchto výkyvů je dobré provádět odběry v konkrétní hodinu, nejlépe mezi 7. – 9. hodinou ranní
- před odběrem by měl být pacient alespoň 5 min v klidu (doporučuje se 15 min. sezení); nedoporučují se odběry např. po ranním běhu či cvičení, přehnaná fyzická činnost by měla být vynechána alespoň tři dny před odběrem
- mentální stres může zapříčinit zvýšení hladin albuminu, fibrinogenu, glukosy a inzulinu, rovněž tak mohou být ovlivněny hladiny některých hormonů, např. aldosteronu, katecholaminů, kortisolu, prolaktinu a reninu; pacient by se tedy měl, pokud možno, vyvarovat mentálního stresu; velmi pozitivní vliv má klidná atmosféra před odběrem
- pacient by neměl před odběrem jíst, a to někdy i poměrně dlouhou dobu před odběrem, tj. 12 – 14 hodin; 12 hodinové lačnění je např. vyžadováno pro stanovení ALP, cholesterolů (celkového, HDL a LDL), triacylglycerolů, železa, kyseliny močové, fosforu, draslíku, glukosy a některých hormonů
- pacient by se měl před odběrem vyhnout zejména požívání nápojů s kofeinem, požívání alkoholických nápojů a kouření; i jedna cigareta před odběrem ovlivňuje hladinu mnoha analytů jak směrem nahoru, tak směrem dolů; alkohol by se neměl požívat minimálně 24 hodin před odběrem
- pokud je to možné, měly by být vynechány i léky, které pacient užívá
- při vlastním odběru by měl pacient pokud možno ležet
- při dalších odběrech by měl mít pacient vždy stejnou polohu, ve které byl odebírán původně (aby byl zachován stejný plazmatický objem)

Pro zvědavé studenty: Odběr pomocí uzavřeného odběrového systému probíhá zhruba v těchto krocích:

- výběr vhodné odběrové nádoby (pro sérum, plazmu – EDTA, heparin ...)
- výběr vhodné jehly a nástavce, nasazení jehly do nástavce
- použití turniketu („zaškrvení“ paže) na maximálně 1 minutu, cvičení paží pouze omezené
- vpich do vény
- nasazení nádoby
- vyjmutí nádoby po provedeném odběru (a její promíchání v případě aditiv v nádobce)
- případné další nasazení jiné nádoby (pro krevní obraz, koagulace...)



Jehla s „motýlkem“

umožňuje bezpečné zacházení při vpichu bez použití nástavce

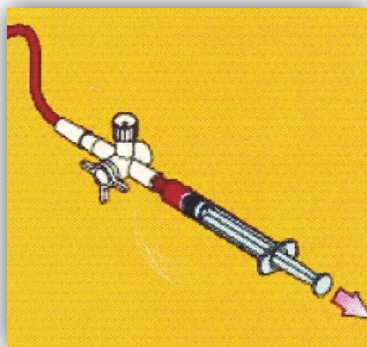


Schéma odběru krve z arteriální linky (kanyly)
speciální odběrovou stříkačkou BD Vacutainer® A-Line.
Vhodné zejména pro analýzu krevních plynů.

Některé odběry vyžadují vpich z prstu (glykemický profil, ABR), případně z ušního lalůčku (ABR), u novorozenců z paty. Odebírá se několik kapek kapilární krve do malé odběrové nádoby (1 - 1,5 ml), případně do kapiláry. Vpich se provádí speciální lancetou nebo injekční jehlou.



Na obrázku vlevo jsou ukázány tři **mechanické lancety** a dvě **mikrozkumavky s nasazenou kapilárou**.



Lanceta
fa Tecom Analytical Systems

Důležité je i pořadí odebíraných vzorků, resp. pořadí použití různých typů zkumavek.

Doporučené pořadí odběrů:

- zkumavka pro hemokultury
- zkumavky bez přísad
- ostatní zkumavky s přísadami
- zkumavky pro hemokoagulaci



Bezpečnostní lancety
fa KARL HECHT GMBH & CO KG
(ovládání tlačítkem)

Pokud se používají zkumavky s různými přísadami, je vhodné následující pořadí - zkumavky s:

K₃-EDTA → heparinem → citrátem → oxalátem → fluoridy.

O důležitosti a významu odběru krve svědčí i to, že v mnoha státech existuje přímo obor "odběry krve" (*flebotomie*) a v tomto oboru jsou cvičeni specialisté (*flebotomisté*), zabývající se výhradně krevními odběry.

Phlebotomia (ř. *fleps-flebos* žíla, ř. *tomé* řez); flebotomie, chirurgické otevření, protěží žíly (ale i název oboru pro žilní odběry)

2.3.3. Typy krví

Základními typy krví jsou krev

- **venózní** = žilní (nejobvyklejší způsob odběru); (anglické, užívané) označení/zkratka „v“ (*velus*)
- **kapilární** (především pro stanovení glukózy, případně laktátu) a kapilární arterializovaná (tj. dobře okysličená kapilární krev, především pro stanovení parametrů acidobazické rovnováhy); zde je lepší odběr z ušního lalůčku než z prstu; (anglické, užívané) označení/zkratka „c“ (*capillary*)
- **arteriální** = tepenná (nejčastěji pro analýzu krevních plynů); (anglické, užívané) označení/zkratka „a“ (*arterial*)

Krev obsahuje *buněčnou složku* (erytrocyty a leukocyty) a *plazmu*

Plazma obsahuje

1. **látky anorganické:** Na⁺, K⁺, Mg⁺, Ca²⁺, Zn²⁺, Fe³⁺, Cl⁻, HCO₃⁻, NH₄⁺
2. **látky organické:**
 - a. glycidové (glukóza, kyselina pyrohroznová, kyselina mléčná)
 - b. tukové (cholesterol, triacylglyceroly, volné mastné kyseliny, fosfolipidy)
 - c. dusíkaté
 - plasmatické bílkoviny (albumin, globuliny, fibrinogen)
 - nebílkovinné látky
 - metabolity (aminokyseliny, peptidy)
 - odpadové (bilirubin, močovina, kreatinin, kyselina močová)
 - dále enzymy normálně přítomné (např. enzymy krevní srážlivosti) a enzymy přítomné (ve zvýšené koncentraci) za patologických stavů (např. ALT, AST aj.).

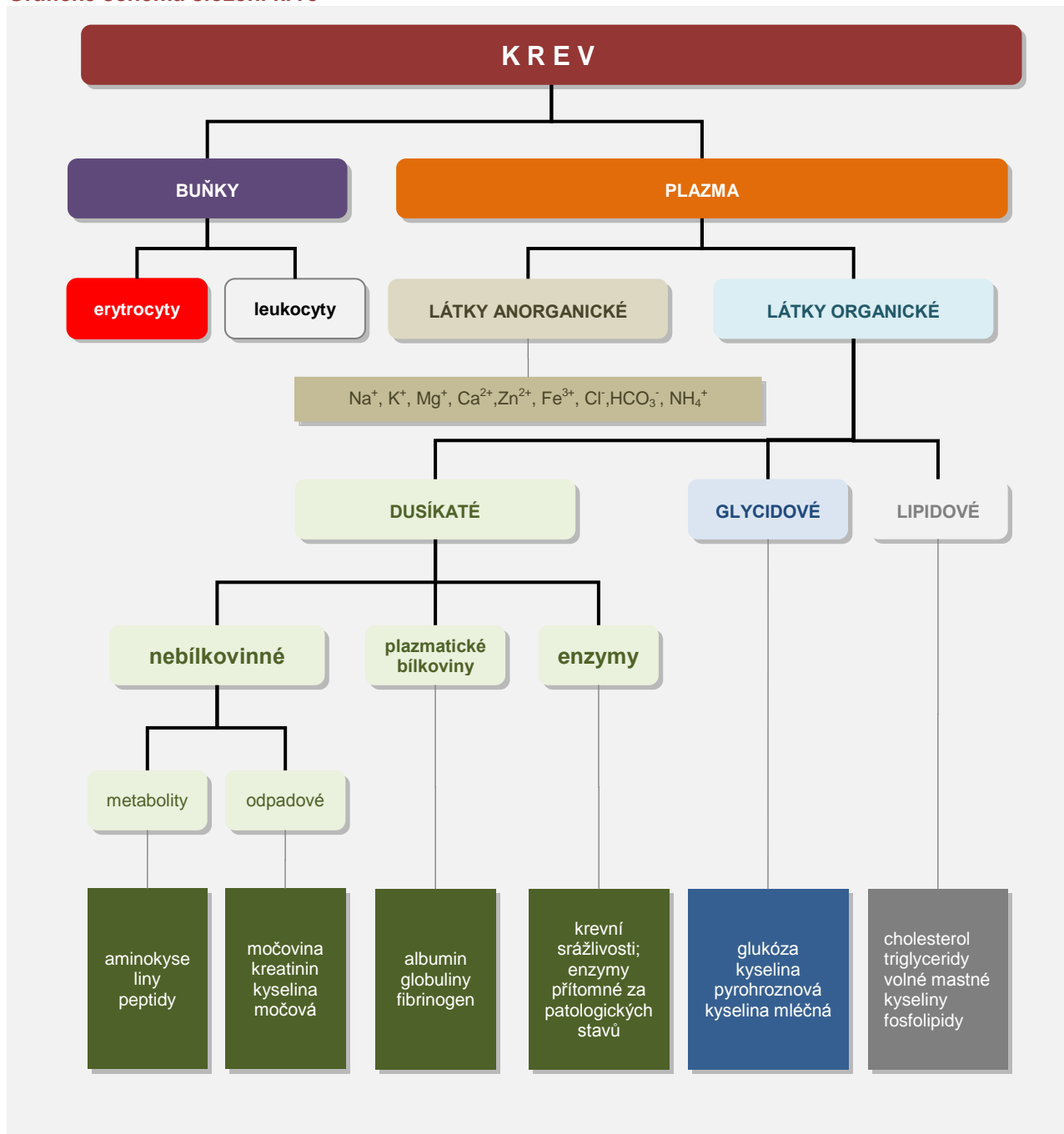
Sérum vzniká během procesu zvaného srážení krve.

Oproti plazmě obsahuje méně bílkovin, dochází u něho vzhledem k plazmě k nárůstu (\uparrow) koncentrace Mg^{2+} , Zn^{2+} , K^+ , Hb a enzymů (rozpad trombocytů a erytrocytů) a k poklesu (\downarrow) koncentrace glukózy (spotřeba v pentózovém cyklu) a tím ke vzrůstu (\uparrow) koncentrace laktátu.

Časový průběh srážení krve

Prvních 30 minut po odběru se krev prakticky nesráží. Sérum se začíná tvořit až během dalších 9 – 12 minut. Celková doba srážení je 12 hodin. Důsledky této skutečnosti pro urgentní stanovení jsou zřejmé – je nutno analyzovat plazmu (odběrové nádoby s protisrážlivým činidlem, obvykle heparinátém lithným).

Poznámka: podrobnosti o průběhu srážení krve viz předmět „hematologie“

Grafické schéma složení krve

2.3.4. Látky zabraňující srážení krve (antikoagulancia)

Často je potřeba zpracovávat pouze plazmu. K zabránění srážení krve se používají tzv. *antikoagulancia*:

- heparin (Na^+ , NH_4^+ ; Li^+ - lithná sůl je vhodná pro stanovení iontů, vhodná pro stanovení STATIM)
- citráty (citronany, Na^+ ; typické použití např. pro koagulační vyšetření v hematologii)
- EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová, resp. její sodné a draselné soli: chelaton 3, Na_2EDTA , dobře rozpustná dvojsodná sůl; K_3EDTA se užívá pro vyšetření krevního obrazu v hematologii)
- fluoridy (Na^+ ; např. součást antikoagulačního a stabilizačního roztoku pro stanovení glukózy v plazmě)
- oxaláty (Na^+ , K^+ , NH_4^+)

Poznámka: Uvedené látky vážou Ca^{2+} , citrát a komplexon i Mg^{2+} a Zn^{2+} (protože tyto ionty jsou aktivátory alkalické fosfatázy - ALP, nelze posledně dvě jmenované látky použít při stanovení ALP)

2.3.5. U některých analyz je potřeba sérum deproteinovat

Hodí se k tomu např. tato činidla:

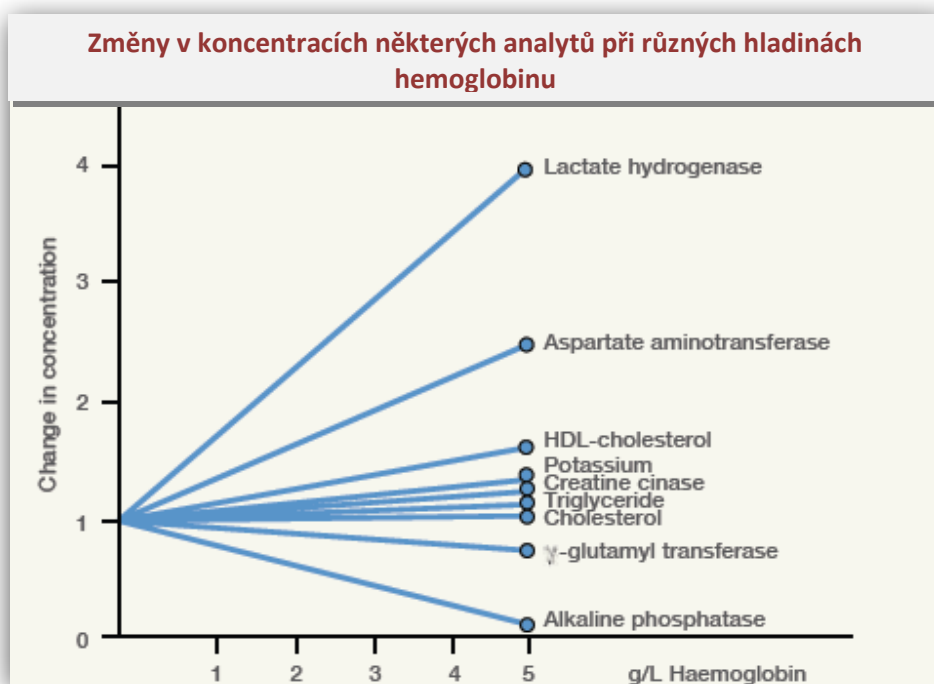
- 5 – 10% kyselina trichloroctová (dříve nejužívanější deproteinační činidlo)
- kyselina sulfosalicylová (rovněž užívaná jako deproteinační činidlo pro průkaz bílkovin v moči – viz kap. 5)
- kyselina chloristá (nejlepší deproteinační činidlo)
- Ostatní, např.: Folin a Wu (činidlo): kyselina fosfowolframová; kyselina fosfowolframová v HCl (sráží glykoproteiny); kyselina pikrová; Somogyiho roztok: hydroxid sodný a síran zinečnatý; octan uranly v NaCl („Urasol“ – *PLIVA-Lachema Diagnostika*, dnes už nevyráběný)

Poznámka: Dříve se ve filtrátu po odbilkování stanovovaly (jinak to nešlo): glukosa, močovina, nebílkovinný dusík, kyselina močová a kreatinin. Látky vyjmenované za glukosou, jsou látky obsahující dusík, ale nejsou to bílkoviny. Proto se lze setkat s pojmem „látky s nebílkovinným dusíkem“ apod. Toto dělení má spíše historický význam, dnes se i tyto látky běžně stanovují bez odbilkování séra (viz kapitola 8).

2.3.6. Hemolýza

Hemolýza = rozpad erytrocytů a vylití jejich obsahu do krevní plazmy/séra

1. *In vivo* (tj. v živém organismu) při vzácné *intravaskulární hemolýze*
2. *In vitro* (doslova „ve skle“ tj. v odběrové nádobce) – při odběru, transportu a základním zpracování krve
 - *mechanická* (příliš utažený turniket/škrtdlo, silné třepání se vzorkem místo jemného promíchání, jehla s malou světlostí, nasávání stříkačkou při odběru vzorku, vystřikování vzorku jehlou ze stříkačky do jiné nádoby, oddělení séra od plazmy po více jak 3 hodinách, odstředování vzorku při vysokých otáčkách a/nebo příliš dlouho, doprava plné krve na velkou vzdálenost aj.)
 - *osmotická* (mokrý zkušavka – týká se otevřeného odběrového systému)
 - *tepelná* (krev zmrzla nebo byla vystavena vysoké teplotě, hrozí zejména při transportu materiálu)
 - *chemická* (desinfekční prostředek – rozrušení membrány erytrocytu; např. dezinfekce na kůži před odběrem)



Překlad:

Change = změna
Potassium = draslík

(*VACUETTE®
Preanalytics Manual*)

Ovlivnění výsledků hemolýzou

Hemolýza ovlivňuje konečné výsledky analýz, a to především těmito mechanismy:

1. Do plazmy se vyplaví obsah erytrocytů (zvýšení koncentrace K, Mg, LD, ACP, AST)
2. Vadí červené pozadí způsobené hemoglobinem
3. Hemoglobin působí jako pufr a mění pH činidla (např. pokles hodnot při stanovení ALP a albuminu)
4. Hemoglobin reaguje s činidlem a rozkládá ho (snížení výsledku při stanovení bilirubinu)

Poznámka: U intravaskulární hemolýzy obvykle nedochází k vzestupu hladiny draslíku, protože pokud jsou ledviny v pořádku, stačí ho vyloučit

Sérum dále může být

- *ikterické* (tj. zabarveno bilirubinem) a také
- *chylózní*, tj. s obsahem tuků

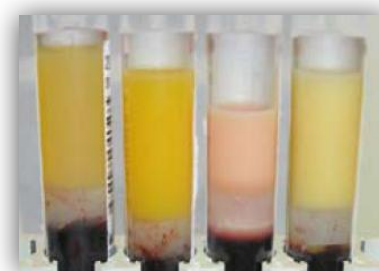
icterus (ř). = žloutenka, žluté zabarvení tkání způsobené bilirubinem

Řecké *icteros* původně označovalo žluty, žlutozlatě vybarvené ptáky. Staří Řekové se domnívali, že nemoc, u které se projevovává žloutenka, se lze zbavit přenesením na žluty prostřednictvím upřeného zírání na ně.

chýlos (ř) = stěvní míza, tekutina mléčně zkalená, podobná míze, obsahující součásti vstřebané potraviny, hlavně tuků



Různě hemolytická séra



Různě chylózní séra

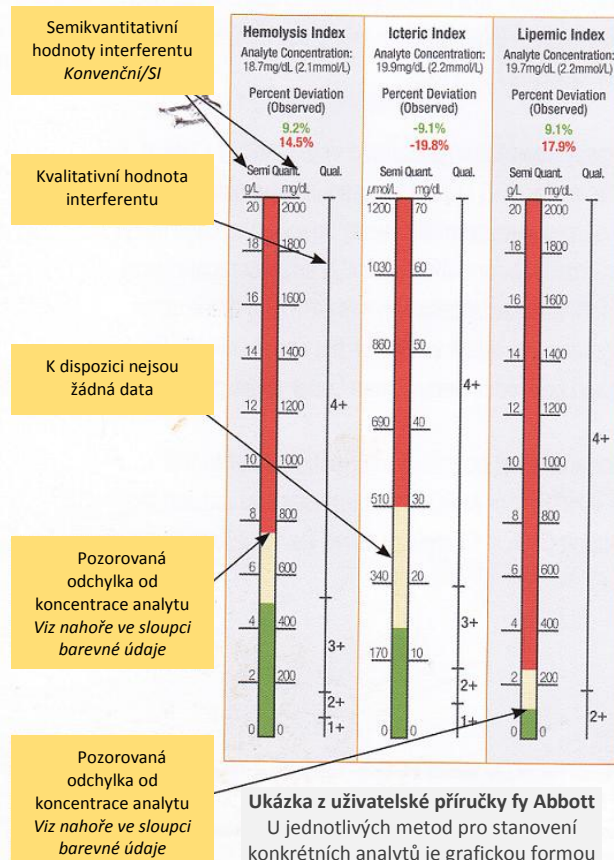
Druhé zleva je ikerické, druhé zprava i hemolytické

2.3.7. Ovlivnění výsledků analýz při odběru - shrnutí

Výsledek analýzy odebraného vzorku může být ovlivněn

- způsobem a kvalitou odběru
- dobou odběru (cirkadiální rytmy, menstruační cykly, poslední jídlo)
- vlivy infuzní terapie (odběr ze stejné žíly, kam je zavedena kanyla, vzorek obsahuje část infuze)
- polohou pacienta při odběru (např. jiné hodnoty celkové bílkoviny při odběru stojícího a ležícího pacienta),
- místem odběru (jiné hodnoty krevních plynů z ušního lalůčku a z prstu)
- přísady k odebrané krvi,
- druhem odběrové nádoby (správný výběr antikoagulantů, stabilizátoru, separačního gelu),
- při kapilárním odběru
 - nedodržením anaerobních podmínek (vzduchové bubliny, neucpaná kapilára)
 - špatným promícháním obsahu kapiláry
 - vymačkáváním krve (z prstu, lalůčku)
- dezinfekčním činidlem,
- stažením paže,
- způsobem uchování vzorku,
- hemolýzou
- záměnou materiálu (plasma versus sérum – různé hodnoty analytů)
- nesprávně odebraným množstvím materiálu (málo vzorku může znamenat nedodržení nutných poměrů vzhledem k antikoagulantům, některé analytické systémy mohou nabrat málo materiálu což může vést k falešně nižším výsledkům)
- špatnou identifikací pacienta, záměnou odběrové nádoby aj. hrubé chyby.

Doporučuje se odběr *ležícího* pacienta (změny v nálezech v krvi odebrané od stojícího pacienta jsou 10-15% proti odběru od ležícího pacienta). Minimálním požadavkem je neměnit polohu pacienta při opakovaných odběrech.



2.4. Doprava materiálu do laboratoře, příjem požadavků, materiálu a výdej výsledků

Doprava biologického materiálu od odebírajícího do zdravotnické laboratoře leží někde na „pomezí“ mezi prepre- a preanalytickou fází. Odpovědnost za tuto část preanalytické fáze sice nese laboratoř, ale svou účast by neměl opomíjet ani odebírající zdravotnický personál. Minimálně v tom, aby dbal na dodržování dohodnutých přepravních dob a na správné uložení biologických vzorků do přepravního boxu, zejména za extrémních klimatických podmínek (mráz, horko).

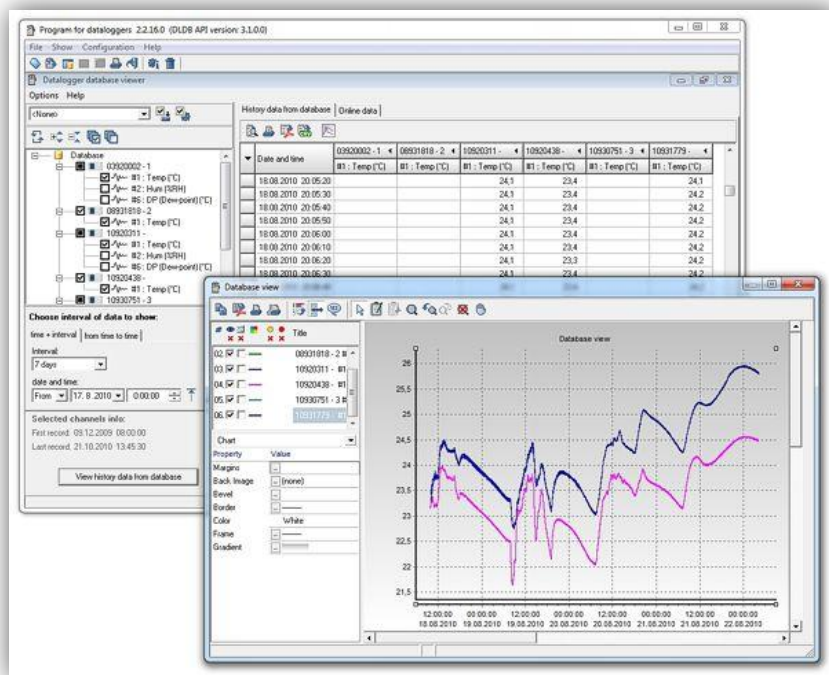
2.4.1. Svoz materiálu

Mezi jednotlivými zdravotnickými zařízeními (vzdálená laboratoř, svoz od obvodních lékařů, svoz do specializované laboratoře apod.) zajišťuje dopravu svozová služba, kterou buď příslušné zdravotnické zařízení samo provozuje, nebo si ji pronajímá. Některé materiály (erymasa, plazma) dopravuje (za určitých definovaných okolností) zdravotní služba (sanitky), případně rychlá zdravotnická pomoc (RZP).

Během dopravy je třeba zajistit, aby se materiál nevyliil, navzájem nepromíchal, aby nebyl vystavován extrémním změnám teploty, aby nebyl mechanicky namáhán (třepání za jízdy) atd. Některé druhy materiálů (krevní deriváty k aplikacím) vyžadují striktní dodržení teploty v určitém intervalu, což předpokládá použití chladniček, mrazniček a sledovacích čipů či jiných zařízení, která monitorují a zaznamenávají teplotu po celou dobu přepravy (datový záznam lze přenést do počítače, ve kterém je uchováván a je možno ho vytisknout ve formě datového listu a/nebo grafu).



Přepravní box
(tzv. aktivní, s chladicí jednotkou
připojitelnou na autobaterii i na síť)
ENGEL K-MT-35-F12/24/230V



Ukázka tzv. **dataloggeru**, teploměru průběžně zaznamenávajícího teplotu, s vnitřním čidlem, s možností napojení na PC, vhodného k průběžnému sledování teploty (např. v přepravním boxu).
COMET SYSTEM, s.r.o. (nahore).

Výpis dat z tohoto dataloggeru včetně grafu (vlevo).

WEB: <http://www.cometsystem.cz/>; www.testo.cz

2.4.2. Příjem požadavků, materiálu a výdej výsledků

Zde se již jedná o tu část preanalytické fáze, která probíhá ve zdravotnické laboratoři. V principu je možný dvojitý příjem požadavků a materiálu i výdej výsledků:

- **příjem požadavků a výdej výsledků**
 - přímo u příjmového okénka, osobně laboratorním pracovníkem
 - prostřednictvím nemocničního informačního systému (NIS), elektronicky
- **příjem materiálu**
 - osobně u příjmového okénka
 - prostřednictvím dopravníku (potrubní pošta)

Podrobnosti k potrubní poště na <http://www.potrubniposta.cz/>

Nejstarší je způsob osobní, kdy laborant přebírá materiál i požadavek (žádanku) na analýzy u příjmového okénka, případně stejným způsobem i vydává výsledky. Požadavky může zapisovat do příjmové knihy, nebo spíše zadat do laboratorního informačního systému (LIS). Požadavky lze též odečíst z některých typů žádanek "čtečkou", tj. zařízením, které je schopno této činnosti. V této souvislosti jsou hojně využívány tzv. čárové kódy (pro identifikaci pacienta, zkumavky, požadavků atd.).



Vkládání přepravního pouzdra do stanice potrubní pošty

Mnohá zdravotnická zařízení mají vybudovanou počítačovou síť a provozují na ní některý z vyšších softwarových systémů, např. *nemocniční informační systém (NIS)*, pomocí kterého lze mimo jiné zadávat požadavky na laboratorní provozy i odečítat, případně i tisknout, laboratorně validované/verifikované výsledky. Velmi často jsou laboratorní provozy elektronicky propojeny i s (často vzdálenými) ambulancemi, pro přenos dat.

Příjem materiálu nemusí být osobní, může se dít např. prostřednictvím **potrubní pošty**, což je rychlý a efektivní způsob přepravy vzorků. Odběrové nádoby jsou uzavřeny ve speciálních pouzdech a dopravovány stlačeným vzduchem soustavou potrubí. Existují i **jiné způsoby transportu**, např. připomínající vlak, protože vzorky jsou přepravovány ve speciálních vozičkách po kolejích.

Přednost v současnosti mají ty systémy, které maximálně vylučují lidský zásah (čárové kódy, čtečky, NIS, LIS, pneumatická doprava...). Eliminují se tím chyby způsobené lidským faktorem, práce je snazší a rychlejší, a to nejen v běžném provozu, ale zejména o pohotovostních službách, kdy personální obsazení provozu je menší než při běžném provozu rutinním.

Závěrem je třeba se ještě zmínit, že pro provozy s denním příjmem vzorků nad 1000 - 1500 se začínají zavádět některé ze systémů, které zcela, nebo alespoň částečně, automatizují preanalytickou část vyšetření (*preanalytické moduly*). Tyto systémy dovedou automaticky zcentrifugovat vzorky, odzátkovat odběrové nádoby, rozpipetovat potřebná množství (aliquotace) séra či plazmy do příslušných nádobek ve vhodných stojanech, případně i tyto stojany dopravit k určitému automatickému analyzátoru (biochemickému, hematologickému, imunologickému...). Vznikají tak automatizované linky (viz dále odst. 2.10., a též kapitulu 23., část věnovanou mechanizaci a automatizaci příslušné laboratorní fáze).

2.5. Skladování biologického materiálu

Biologický materiál podléhá zkáze, málokterý analyt je stabilní. Stabilita analytů je doba, po kterou se počáteční obsah (koncentrace, aktivita aj.) analytu ve vzorku při skladování za přesně definovaných podmínek nemění.

Kvantitativně je stabilita vyjádřena jako čas, během kterého se počáteční koncentrace analytu nezmění o více než 1/12 referenčního intervalu při 95% intervalu spolehlivosti.

Většinou je pro zachování stability analytů nutná snížená teplota skladování, případně zmrazení materiálu na poměrně nízké teploty (-20 °C, -30 °C i méně: některé vzorky, zejména tkáň, se přechovávají při -80 °C, případně v tekutém dusíku). V laboratořích je třeba zavést závazné předpisy pro uchovávání materiálu pro jednotlivé analýzy, ve kterých musí být uvedena skladovací teplota, případná ochrana před světlem, doba skladovatelnosti a laboratorní personál musí znát obecné zásady skladování biologického materiálu a musí vědět, kde je umístěna příslušná příručka konkrétně popisující skladovací podmínky.

2.5.1. Ovlivnění výsledků transportem a skladováním

Na konečné výsledky může mít vliv v těchto úsecích preanalytické fáze především

- působení času, teploty a mechanických vlivů (otřesy a vibrace – denaturace bílkovin, enzymů), nezakrytý vzorek ⇒ možnost kontaminace, převrácení nádobek se vzorky atd. během transportu vzorku z místa odběru do laboratoře

Skutečná příhoda z laboratorní praxe: Byl zjištěn náhlý vzrůst koncentrace kreatininu v séru u pacienta, kde k tomu nebyl důvod. Příčina – osoba přenášející vzorky v otevřených nádobkách na nádvoří nemocnice zaškolbrtla a došlo k přelití části vzorku moče (stál za zkumavkou se sérem) do sérové zkumavky.

- skladování vzorků v laboratoři (teplota, světlo, mechanické vlivy...)
- nestandardní zacházení se vzorky (je nutno zavést závazné pokyny pro zacházení se vzorky = standardizace způsobu posílání vzorků do laboratoře)

2.6. Příprava biologického materiálu k analýze

Nejčastějším zpracovávaným materiálem je sérum. Zde je potřeba vyčkat dostatečně dlouhou dobu, než se sérum vysráží. Záleží na použité odběrové nádobce, jestli obsahuje akcelerátor srážení nebo je bez přísad. V čisté zkumavce probíhá srážení asi hodinu, ve zkumavce s akcelerátorem asi 5 minut. Je-li materiálem plazma, nečeká se na srážení, proto je tento materiál vhodný k urgentním analýzám. V obou případech je důležité zachovat správné podmínky centrifugace (odstředování) materiálu, aby došlo k dokonalému oddělení séra (plazmy) od erytrocytů, aby v případě plazmy došlo i k dokonalé sedimentaci leukocytů (důležité zvl. při imunochemických analýzách, např. při stanovení *troponinů*).

Příliš velká relativní odstředivá síla (vysoké otáčky) při centrifugaci může naopak vést k rozbití buněk např. při vyšetřování *močového sedimentu*. V některých případech je nutno centrifugovat při snížené teplotě okolí (chlazené centrifugy). Tak je tomu při analýzách některých hormonů.

Základní vlivy centrifugace na konečný výsledek tedy mají relativní centrifugační/odstředivá síla (RCS), doba odstředování, teplota při odstředování. Některý materiál je potřeba stabilizovat přidáním stabilizátorů (např. *aprotinin* [inhibitor *proteáz*] pro analýzu hormonů), nebo okyselit, aby došlo k rozpuštění vysrážených komponent (okyselení moči pro analýzu Ca^{2+} , Mg^{2+}) atd.

Další činitelé mající vliv na konečný výsledek analýzy

- Velmi důležitá je čistota laboratorního skla: např. mnoho laboratorních zkoušek/testů využívá enzymy, případně přímo enzymy stanovuje, při analýze stopových prvků není nutno se o čistotě laboratorního skla ani zmiňovat - je třeba pokud možno používat jednorázové pomůcky, případně i speciální odběrové nádoby (viz dále)
- Zbytky čisticích a dezinfekčních prostředků mohou způsobit podstatné zkreslení výsledků
- Důležitou roli hraje čistota vody používané při analýzách; používá se především deionizovaná voda, která se např. pro enzymové analýzy upřednostňuje před vodou destilovanou; vodivost deionizované vody pro analýzy s využitím enzymů (a pro automatické analyzátoři) vyžaduje vodivost pod 3 μS

2.7. Některé speciální otázky preanalytické fáze

- **imunochemická měření:** zde je třeba pečlivě volit vhodné odběrové nádoby, protože např. některé separační gely ovlivňují některá imunochemická stanovení, i když v poslední době je snad toto omezení eliminováno; každopádně je nutno prostudovat před použitím nádoby příbalový leták, případně vznést dotaz na dodavatele); je také nutné používat nádoby s vhodnými stabilizátory (např. pro odběr hormonů)
- **analýza lékových hladin (TDM):** je nutno brát ohled na správné načasování odběrů vzorků (před podáním léků, ve vhodné fázi po podání léku – při maximální koncentraci v séru, při minimální koncentraci v séru, atd.); co se týká odběrových nádobek platí totéž co pro imunochemická měření
- **metody molekulární biologie:** jsou to extrémně citlivé metody, je proto třeba klást zvýšený důraz na zábranu kontaminace
- **měření krevních plynů (ABR) a iontů systémy s iontově selektivními elektrodami (ISE):** zde je důležitá stabilita složení vzorků – což vyžaduje zejména včasnou dopravu vzorků do laboratoře, případně vhodné uchování při nemožnosti provést okamžitě analýzu; také volba odběrových kapilár může hrát svou roli, různé typy (z různých materiálů) jsou různě propustné pro plyny, což zvl. při delší pauze od odběru může mít vliv na složení vzorku
- **měření stopových prvků (Zn, Se, Cu, Cd, Pb apod.):** vzhledem k množství stanovovaného prvku mohou existovat různé (nečekané) zdroje kontaminace, je třeba používat speciální odběrové nádoby (*metal free*), nejlépe jednorázové, v horším případě klasické skleněné, ale pečlivě připravené (např. máčením ve zředěné kyselině solné)

2.8. Jak minimalizovat změny v preanalytické fázi

Ovlivnění průběhu preanalytické fáze (včetně prepreanalytické) je (a mělo by být) v rukou laboratorních pracovníků. Tato část laboratorního vyšetření má významný vliv na konečný výsledek a určité je zájmem každého laboratorního pracovníka, aby výsledky vydávané laboratoří byly co nejlepší.

Co je k tomu potřeba?

- Dokonalý výcvik zdravotnického personálu provádějícího odběry, včetně poučení o rizicích odběrů. Srovnej k tomu také poznámku o flebotomii na str. 2-10.
- Aby zdravotničtí pracovníci pochopili, jak může preanalytická fáze ovlivnit konečný výsledek. Zde je místo pro přednášky a školení (v režii laboratorního oddělení) a různé (i edukační) příručky, zejména pro *Laboratorní příručku*.
- Kontrolovat dodržování zásad preanalytické fáze (v laboratořích, nejlépe v rámci interních auditů, podobně tak na klinických odděleních a v ambulancích a v ordinacích, zde v rámci externích auditů)
- Zavedení plné identifikace laboratorních vzorků biologických materiálů, tzn. maximální využití soudobé techniky, čárových a mikročipových kódů a dalších elektronických a jiných pomůcek.
- Používání primárních vzorků, tzn. přímo odběrových nádobek bez přepipetování, případně využívání techniky přímo vyvinuté pro rozpipetování vzorků do sekundárních zkumavek (tj. pro tvorbu alikvotů), čili zavedení preanalytických či perianalytických modulů tam, kde je to možné a má to své opodstatnění (viz kapitola 23, část věnovaná *automatizaci preanalytické fáze*).
- Zavedení závazných předpisů na použití vhodných odběrových nádobek (v laboratořích, na klinických odděleních, v ambulancích a ordinacích); to lze realizovat např. vydáním speciálních návodů či příruček, anebo přímo v *Laboratorní příručce* uváděním vhodných typů odběrových nádobek u jednotlivých analytů
- Zavedení (zdravotnickou laboratoří) systému kontrol pro testy *prováděné u lůžka (POCT)* a sledování těchto testů, uvědomění si zodpovědnosti zdravotnické laboratoře za tyto testy, z čehož vyplývá i povinnost poskytnout klinickým pracovištím srozumitelné návody, zaškolení a zázemí, ve formě celkové spolupráce
- Standardizace dopravy a přepravy laboratorních vzorků do klinických laboratoří.
- Provázanost LIS a NIS, aby bylo možno přesně sledovat časový průběh preanalytické fáze, tzn. čas ordinace testu, skutečný čas odběru, čas příjmu v laboratorním provozu; návazně potom čas ukončení celého procesu v laboratoři, tj. čas podpisu a výdeje výsledků a celkovou dobu, kterou vzorek stráví v laboratoři (tzv. *TAT – turn around time*)
- Vytvoření závazných pravidel preanalytické fáze formou směrnic, standardních operačních předpisů (SOP) a laboratorních příruček.

Dokonalé poznání všech zdrojů preanalytických změn a jejich eliminace nebo alespoň minimalizace vede k dosažení

- maximální stability obsahu analytů ve vzorcích
- minimálního ovlivnění obsahu analytů ve vzorcích nežádoucími vlivy.

2.9. Chyby v postanalytické fázi

Rovněž postanalytická fáze přináší problémy, které mohou vést ke špatným výsledkům měření.

Mezi nejznámější příčiny postanalytických chyb patří

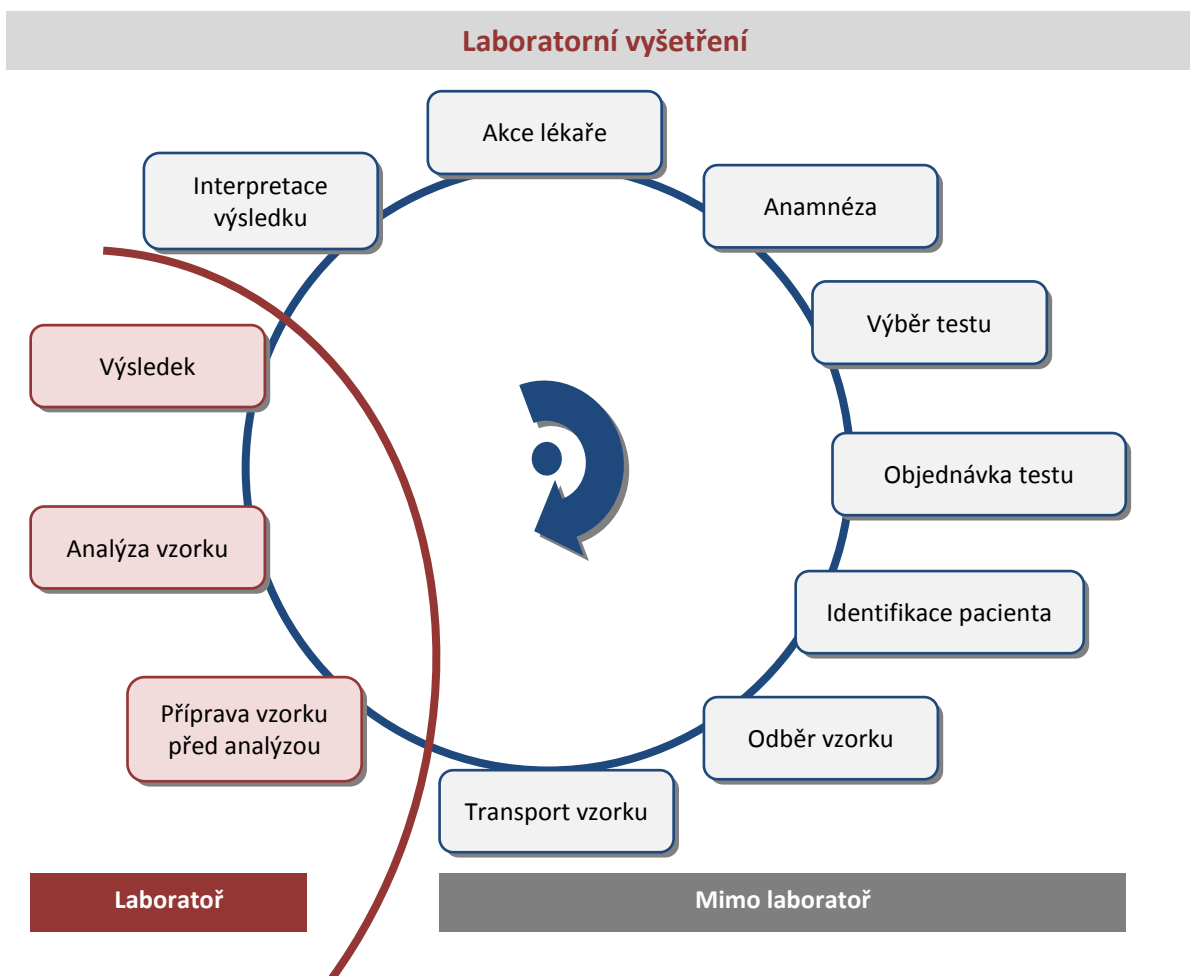
- nesprávné opsání výsledku (vynechání desetinné čárky, špatné číslo)
- nesprávný přepočet výsledků (nesprávný vzorec, faktor, přepsání se na kalkulačce, špatná obsluha kalkulačky)
- nesprávné zařazení výsledku (k jinému pacientovi)
- nesprávné odeslání výsledku (na jiné oddělení, jinému lékaři)
- špatná interpretace výsledku (ale to už patří do postpostanalytické fáze).

Většinu uvedených příčin postanalytických chyb řeší zavedení laboratorních informačních systémů, školení laboratorního personálu apod.

Poznámka: Shrnutí o chybách v laboratorním vyšetření je v Dodatku.

2.10. Dodatek

2.10.1. Laboratorní vyšetření a výskyt chyb v jednotlivých fázích



Potenciální chyba: představuje riziko ohrožení pacienta

Aktuální chyba: bezpečnost pacienta již byla ohrožena

Z celkového počtu chyb v laboratoři

- může ovlivnit péči o pacienta 24 – 30% chyb,
- potenciální nebo aktuální ohrožení pacienta tvoří 3 – 12% chyb.

Obsáhlé vícečetné studie vedou k závěrům, že z celkového počtu chyb v procesu vyšetření se

- v preanalytické fázi se vyskytuje 31 – 75% chyb
- v preanalytické fázi ve statimovém režimu se vyskytuje až 62% chyb
- v analytické fázi se vyskytuje 13 – 31% chyb
- v analytické fázi ve statimovém režimu se vyskytuje 15% chyb
- v postanalytické se vyskytuje 9 – 31% chyb
- v postanalytické fázi ve statimovém režimu se vyskytuje 23% chyb.

Další studie, rozlišující pre-pre... a post-postanalytickou fázi dospěla k závěrům, shrnutým v tabulce:

Fáze	Nejčastější zdroje chyb	Počet chyb z celkového procesu vyšetření
Pre-preanalytická	Nevhodný výběr testů, požadování testů, špatná identifikace pacienta a vzorku, odběr biologického materiálu, nesprávně naplněné či prázdné odběrové nádoby, nevhodně použité odběrové nádoby transport.	46 – 68%
Preanalytická	Omyly při třídění vzorků, alikvotování, pipetování, označování sekundárními štítky, chyby při centrifugaci.	3 -5%
Analytická	Poruchy techniky a lidské omyly při jejich obsluze, chyby při řízení kvality, vydání nesprávného výsledku k validaci lékařem.	7 – 13%
Postanalytická	Chybná či nedostatečná validace analytických dat v laboratoři, odeslání výsledků špatnému adresátovi, překročení TAT (turn around time), chyby při přepisu výsledků při manuálním vkládání dat do LIS, nesprávný postup při hlášení výsledků v kritických intervalech.	13 – 20%
Post-postanalytická	Nerespektování dodaného výsledku, nesprávná interpretace výsledku, nevhodné naplánování další péče o pacienta, chyby při vyžadování dalších konzultací.	25 – 46%

Všechny tyto fáze jsou ovlivnitelné laboratorním personálem (pre-pre... a post-post... fáze zejména edukačně).

Zdroj: Antonín Jabor, Janka Franeková, Zdeněk Kubiček, *Principy interpretace laboratorních testů*, vydáno s podporou firmy Roche s.r.o., Diagnostics Division, Praha 2013.

2.10.2.Kódování odběrových systémů

Ukázka z katalogu italské firmy **VACUTEST KIMA**, jejíž produkty jsou nabízeny i v České republice:

	Clot activator	Granules and clot activator	Gel and clot activator	Lithium heparin anticoagulant	K2EDTA anticoagulant	K3EDTA anticoagulant	Na Citrate 3,8% - 3,2% (Vacutest IN GR)	Na Citrate 3,8% - 3,2% (Vacutest IN)	KF+NA2EDTA anticoagulant (Vacutest IN)
13 X 75	2 ml 11002	3,5 ml 10515	3,5 ml 10010	2 ml 12005	2 ml 13505	2 ml 13005	3,15 ml 14315 14365	1,8 ml 14010 2,25 ml 14020 14084	2 ml 13810
	3 ml 11005		3,5 ml 10108	4 ml 12010	3 ml 13510	3 ml 13010		Na Citrate (Vacutest IN)	KF+Na2EDTA anticoagulant
	4 ml 11010		3,5 ml 10204	Gel and Lithium heparin 3 ml 12550	4 ml 135300	4 ml 13030		1,6 ml 14100 14200	2 ml 13805 4 ml 13820
						K3EDTA anticoagulant (Vacutest IN) 2 ml 13840			
13 X 100	6 ml 11020	5 ml 10525	5 ml 10020	6 ml 12020	6 ml 135400	6 ml 13040			6 ml 13825
			5 ml 10118	Gel and Lithium heparin 5 ml 12570					
			5 ml 10214						
16 X 105	9 ml 11030	8 ml 10535	8 ml 10060	9 ml 12030					
			8,5 ml 10138	Gel and Lithium heparin 8 ml 12580					
			8,5 ml 10234						

Na schématu lze vidět velikost **odběrových nádobek**, použité aktivátory, protisrážlivé prostředky i barevný systém značení uzávěrů odběrových nádobek **firmy Vacutest KIMA**

COLOUR CODE	ADDITIVE
	Buffered Citrate solution 3,8%, 9/1
	Buffered Citrate solution 3,8%, 9/1
	Na-Fluoride / K-Oxalate
	Na-Fluoride / K-Oxalate
	Lithium-Heparin
	Lithium-Heparin
	Clot activator
	Clot activator
	Clot activator + autoseparating gel
	Clot activator + autoseparating gel
	K3-EDTA, wall coating
	K2-EDTA, wall coating
	K3-EDTA, wall coating
	K2-EDTA, wall coating
	Buffered Citrate solution 3,8%, 9/1
	Buffered Citrate solution 3,2%, 9/1
	Buffered Citrate solution 3,8%, 4/1
	K3-EDTA, wall coating
	K2-EDTA, wall coating
	Buffered Citrate solution 3,8%, 9/1
	Buffered Citrate solution 3,2%, 9/1
	CPD-Solution
	CTAD-Solution
	Na-Fluoride / K-Oxalate
	Lithium-Heparin
	VF-054SAS or VF-054SAHL
	Clot activator
	Clot activator
	Thrombin
	K3-EDTA, wall coating
	K2-EDTA, wall coating
	Buffered Citrate solution 3,8%, 9/1
	Buffered Citrate solution 3,2%, 9/1
	Na-Fluoride / K-Oxalate
	Buffered Citrate solution 3,8%, 4/1
	Buffered Citrate solution 3,1%, 4/1
	VF-054SAS or VF-054SAHL
	K3-EDTA, wall coating
	K2-EDTA, wall coating
	Clot activator + autoseparating gel
	Clot activator + autoseparating gel
	ACD-Solution
	CPD-Solution
	Clot activator
	K2-EDTA, wall coating
	Buffered Citrate solution 3,8%, 9/1
	Clot activator + autoseparating gel
	Clot activator + autoseparating gel
	Na-Fluoride / K-Oxalate
	Sodium-Heparin
	Lithium-Heparin
	Clot activator
	K2-EDTA, wall coating
	ACD-Solution
	Clot activator + autoseparating gel
	Clot activator + autoseparating gel



-  Standardní nádobka
-  Nádobka se separačním gelem
-  Nádobka s krastenem
-  Pediatrická nádobka

Část katalogového listu odběrových nádobek firmy Terumo, konkrétně pro plastové nádobky.

Prakticky totéž platí i pro nádobky skleněné.

http://www.terumo-europe.com/laboratory/lab1_0_project.php

Lze si všimnout, že základní barevné kódy jsou velmi podobné kódům firmy BD:

- Červená - sérum
- Modrá – citrátový puf
- Zelená – lithiumheparinát
- Fialová K3K2-EDTA
- Šedá – NaF (glykemie)

**Kódový barevný systém značení uzávěrů odběrových nádobek
firmy greiner bio-one**



VACUETTE® tube type	Colour coding of cap	Additive	Intended pupose
Serum		Clot activator	Determinations in serum for clinical chemistry, microbiological serology, immunology, TDM
Serum Gel		Clot activator and gel	Determinations in serum for clinical chemistry, microbiological serology, immunology, TDM
Serum Beads		Clot activator and beads	Determinations in serum for clinical chemistry, microbiological serology, immunology
Serum Crossmatch		Clot activator	Determinations in serum for crossmatch testing
Plasma		Sodium heparin Lithium heparin Ammonium heparin	Determinations in heparinised plasma for clinical chemistry
Plasma Gel		Lithium heparin and gel	Determinations in heparinised plasma for clinical chemistry
EDTA		K ₂ EDTA K ₃ EDTA	Determinations in EDTA whole blood for haematology
EDTA Crossmatch		K ₃ EDTA	Determinations in EDTA whole blood for crossmatch testing
EDTA Gel		K ₂ EDTA/gel	Determinations in EDTA plasma for molecular biological identification of viruses, parasites and bacteria
Coagulation		Citrate solution (3,2%) Citrate solution (3,8%)	Determinations in citrated plasma for coagulation testing
CTAD		CTAD (3,2 %)	Determinations in citrated plasma for coagulation testing where the artificial entry of platelet factors into the plasma is avoided
Glucose		Anticoagulant glycolysis inhibitor	Determinations in stabilised anticoagulated whole blood or plasma for glucose and lactate testing
Trace Elements		Clot activator sodium heparin	Determinations in serum / heparinised plasma for trace elements testing
Blood Grouping		ACD-A ACD-B CPDA	Determinations in ACD / CPDA whole blood for blood grouping

Fig. 23: International Colour Coding according to ISO 6710



Pro USA

Pro EU

	S-Monovette® Serum	10 min.	2,000 x g	20°C
	S-Monovette® Serum-Gel*	10 min.	2,500 x g	20°C
	S-Monovette® Li-Heparin	10 min.	2,000 x g	20°C
	S-Monovette® Li-Heparin-Gel*	10 min.	3,000 x g	20°C
	or	15 min.	2,500 x g	20°C
	S-Monovette® EDTA-Gel*	10 min.	2,500 x g	20°C
	S-Monovette® Citrate	10 min.	1,800 x g	20°C

*For S-Monovettes with gel preparation we recommend to use swing-out rotors only.

	S-Monovette® Serum	10 min.	2,000 x g	20°C
	S-Monovette® Serum-Gel*	10 min.	2,500 x g	20°C
	S-Monovette® Li-Heparin	10 min.	2,000 x g	20°C
	S-Monovette® Li-Heparin-Gel*	10 min.	3,000 x g	20°C
	or	15 min.	2,500 x g	20°C
	S-Monovette® EDTA-Gel*	10 min.	2,500 x g	20°C
	S-Monovette® Citrate	10 min.	1,800 x g	20°C

*For S-Monovettes with gel preparation we recommend to use swing-out rotors only.

Barevné značení uzávěrů odběrových nádobek firmy Sarstedt (*S-Monovette*®) je rozdílné nejen od značení předchozích výrobců (*Greiner, Beckton-Dickinson*), ale je rozdílné i pro Evropu a pro USA, kdy to americké se, kupodivu, více blíží značení dříve jmenovaných výrobců, než to evropské.



S-Monovettes are also available with a paper label to write on.

Outer tube diameter	15 mm	15 mm	15 mm	15 mm	13 mm	11 mm	11 mm	8 mm	8 mm
Outer diameter screw cap	19 mm	18 mm	18 mm	16 mm	16 mm	13 mm	13 mm	15 mm	13 mm
Tube length with screw cap	106 mm	108 mm	97 mm	106 mm	81 mm	106 mm	82 mm	146 mm	82 mm
Tube length without screw cap	92 mm	92 mm	75 mm	90 mm	65 mm	92 mm	66 mm	130 mm	68 mm
Screw cap for re-capping	65.176	65.729	65.729	65.728	65.728	65.1121	65.1121	65.1121	65.1121

* S-Monovettes are only available with paper label

Monovette® firmy Sarstedt

2.11. Stručné shrnutí kapitoly

- Užitečným pomocníkem v diagnostice a léčbě je lékaři biochemické vyšetření, které ho informuje o metabolických funkcích, jejichž postižení je podkladem většiny chorob a přitom je dostatečně specifické a citlivé, kvantifikovatelné, relativně snadno dostupné a příliš nezatěžuje pacienta.
- Aby mělo biochemické vyšetření smysl, musí být cíleně indikováno, má řešit konkrétní cíl, objednavatel by měl znát význam požadovaného testu a jeho typický průběh o daného onemocnění. Odezva laboratoře musí být rychlá a výsledek rychle a snadno dostupný příslušné osobě.
- Biochemické vyšetření lze nazvat biochemickým či laboratorním diagnostickým procesem, protože má svou typickou skladbu, ze které je část mimolaboratorní a část laboratorní.
- Biochemické vyšetření se skládá z preanalytické, analytické a postanalytické části, resp. fáze. V preanalytické části se rozlišuje mimolaboratorní prepreanalytická část, v postanalytické části laboratorního vyšetření se rozlišuje mimolaboratorní postpostanalytická část. Všechny části mohou zásadně ovlivnit konečný výsledek laboratorního testu.
- Prepreanalytická část může ovlivnit výsledek vyšetření kvalitou poučení pacienta před odběrem a dodržení stanovených podmínek pacientem, způsobem odběru, skladováním odebraného vzorku a jeho přepravou do laboratoře.
- Moderní uzavřené odběrové systémy při dodržení předepsaných postupů zvyšují kvalitu odběru a ve zvýšené míře (oproti otevřeným systémům) chrání odebírající personál i pacienta před případnou infekcí. Odběrové systémy mají podobnou signalizaci typů odběrových nádobek, nikoliv však standardizovanou, odebírající i laboratorní personál musí být tedy poučen o jednotlivých typech odběrových nádobek a o jejich určení.
- V preanalytické části může dojít k ovlivnění zejména skladováním vzorku a jeho přípravou k analýze.
- Analytickou částí se zabývá jiná kapitola těchto skript, ovlivnění výsledků v této části může být zásadní, zpravidla však bývá nejmenší.
- V postanalytické části záleží na kvalitě výstupní kontroly výsledků a zpětné kontrole vstupních dat.
- Postpostanalytická část je částí interpretační, týká se zejména lékaře, který si vyšetření objednal a jeho schopností vytěžit z výsledku maximum.
- Biochemické vyšetření lze dělit (ve smyslu rozlišovat) dle různých hledisek, nejobvyklejší dělení bývá na rutinní a statimové (urgentní).
- Pro různé účely jsou vhodné různé biologické vzorky. Nejčastějšími biologickými vzorky jsou plná krev, sérum, plazma, moč, případně likvor a různé typy výpotků. Ve výsledkové zprávě musí být vždy jasně uvedeno, jaký biologický materiál byl testován.
- Pro statimové účely je nevhodnější plazma s heparinátom amonným. Její složení není stejné jako složení séra, v některých případech se budou lišit i referenční hodnoty.
- Výsledek může ovlivnit hemolýza (vyplavením obsahu erytrocytů do plazmy, zabarvením, pufrací reakčního prostředí, reakcí hemoglobinu), chylozita (vysokým objemem lipidů a zakalením roztoku) a ikterus (žluté zbarvení reakční směsi, případně konkurenční reakce bilirubinu).
- Chyby a omyly v preanalytické i postanalytické fázi mohou být značně eliminovány použitím moderních elektronických prostředků, zejména laboratorního informačního systému (nejlépe s návazností na nemocniční informační systém), preanalytických a perianalytických modulů, programů vhodných ke sledování teplot v zařízeních archivujících biologické vzorky.

2.12. Kontrolní otázky a úkoly

1. Charakterizujte klinicko-biochemické vyšetření
2. Podle jakých principů byste biochemické vyšetření rozdělili?
3. Co je to preanalytická fáze, z jakých částí se skládá?
4. Může preanalytická fáze ovlivnit výsledek? Pokud ano, jak?
5. Může „laboratoř“ ovlivnit přípravu pacienta?
6. Popište moderní odběrové systémy
7. Jaké jsou typy krví?
8. Co jsou to aditiva?
9. Jak hemolýza ovlivňuje konečný výsledek?
10. Může postup odběru krve ovlivnit výsledek? Pokud ano, jak?
11. Jaký vliv na konečný výsledek má doprava a skladování biologického materiálu?
12. Kdy začíná preanalytická fáze? Může ovlivnit konečný výsledek? Pokud ano, jak?
13. Co víte o speciálních otázkách preanalytické fáze?
14. Lze se dopustit chyb v postanalytické fázi? Pokud ano, jakých?

2.13. Užitečné WEB adresy

Podrobný popis preanalytické fáze od fy GreinerBbio-One GmbH [zde](#).

Manuál preanalytické fáze Greiner Bio-One GmbH [zde](#).

Videa týkající se centrifugace je možno nalézt [zde](#).

Katalog odběrových nádobek a potřeb firmy Terumo [zde](#).

Katalog odběrových nádobek a potřeb firmy Beckton-Dickinson [zde](#).

OBSAH:

Kapitola 2 Laboratorní vyšetření	2-1
2.1. Biochemické vyšetření	2-1
2.1.1. Dělení biochemických vyšetření	2-1
2.1.2. Fáze biochemického vyšetření	2-3
2.2. Prepreanalytická část	2-4
2.2.1. Příprava pacienta	2-4
2.3. Odběry biologického materiálu	2-4
2.3.1. Odběrové systémy	2-4
2.3.2. Odběry krve	2-9
2.3.3. Typy kreví	2-10
2.3.4. Látky zabraňující srážení krve (antikoagulancia)	2-12
2.3.5. U některých analýz je potřeba sérum deproteinovat	2-12
2.3.6. Hemolýza	2-12
2.3.7. Ovlivnění výsledků analýz při odběru - shrnutí	2-13
2.4. Doprava materiálu do laboratoře, příjem požadavků, materiálu a výdej výsledků	2-14
2.4.1. Svoz materiálu	2-14
2.4.2. Příjem požadavků, materiálu a výdej výsledků	2-14
2.5. Skladování biologického materiálu	2-15
2.5.1. Ovlivnění výsledků transportem a skladováním	2-15
2.6. Příprava biologického materiálu k analýze	2-16
2.7. Některé speciální otázky preanalytické fáze	2-16
2.8. Jak minimalizovat změny v preanalytické fázi	2-17
2.9. Chyby v postanalytické fázi	2-17
2.10. Dodatek	2-18
2.10.1. Laboratorní vyšetření a výskyt chyb v jednotlivých fázích	2-18
2.10.2. Kódování odběrových systémů	2-20
2.11. Stručné shrnutí kapitoly	2-24
2.12. Kontrolní otázky a úkoly	2-25
2.13. Užitečné WEB adresy	2-25