

Preanalytická příručka

1. Úvod

Cílem laboratorního vyšetření je získání spolehlivých výsledků. Toho je dosaženo jen vzájemnou spoluprací všech zainteresovaných stran (pracovníků laboratoře, lékařů, sester, pacientů, transportní služby). Musí být dodrženy veškeré podmínky před samotným stanovením (preanalytická fáze), během stanovení (analytická fáze) a po stanovení (postanalytická fáze).

Zdroje analytické variability lze charakterizovat jako zdroje ovlivňující výsledky vyšetření, které se vyskytují:

- preanalytická fáze (výsledek je ovlivněn z 65-75%)
- před odběrem biologického materiálu (20-25%)
- při odběru biologického materiálu (15%)
- mezi odběrem biologického materiálu s vlastní analýzou (30-35%)
- vlastní analýza (5-10%)
- po analýze - postanalytická fáze (20-25%)

Preanalytická fáze

- mimolaboratorní zahrnuje
- přípravu pacienta před odběrem (závisí na informovanosti a disciplinovanosti pacienta)
- odběr biologického materiálu (ovlivňuje odběrový personál)
- transport do laboratoře (závisí na odběrovém personálu a transportní službě)
- laboratorní zahrnuje
- příjem vzorků a jejich registraci
- centrifugaci
- skladování vzorků
- příprava před vlastním stanovením

Analytická fáze

Vlastní analýza vzorků. Správnost a spolehlivost je plně závislá na laboratoři a je dána dodržováním postupů správné laboratorní praxe. Denní vnitřní kontrola kvality prováděných vyšetření. Externí kontrola kvality SEKK Pardubice.

Postanalytická fáze

Správná klinická interpretace laboratorních výsledků, vzájemná komunikace mezi žadateli a laboratoří.

Příručka je zaměřena hlavně na mimolaboratorní preanalytickou fázi, protože tu je možné ovlivnit informovaností pacienta a žadatele o postupech při přípravě pacienta před odběrem, chybách při odběru a způsobu transportu vzorků do laboratoře. Cílem je minimalizace chyb a minimální preanalytická variabilita.

2. Zdroje variability před odběrem

2.1 Neovlivnitelné faktory preanalytické variability pacientů

- **cyklické variace** - (denní, roční) jsou periodické jevy, které lze s určitou nejistotou predikovat (např. koncentrace K, Fe, ALT je ráno vyšší než odpoledne, T3 je v létě nižší než v zimě aj.), kromě toho existuje intraindividuální variabilita je to necyklická, nepredikovatelná variace, lze ji minimalizovat pomocí opakovaných odběrů
- **pohlaví a věk** – referenční meze pro různé věkové skupiny a pohlaví

- **rasa**
- **gravidita** - vede ke změnám koncentrace, aktivit nebo počtu komponent (změna produkce hormonů, zvýšení produkce vazebných proteinů, zvýšení glomerulární filtrace až o 50 %, zvýšení objemu moče, zvýšení reaktantů akutní fáze, zvýšení sedimentace erytrocytů až 5x, přesun směrem k anabolismu – pokles močoviny aj.)

2.2 Ovlivnitelné faktory preanalytické variability pacientů

- **fyzická zátěž** – krátkodobá a intenzivní – spotřebovává se ATP, snižuje se inzulin, zvyšuje se glukosa a laktát, dlouhodobá námaha (maratón) – zvýšení Na, K, Ca, P, ALP, AST, močovina CK.
- **vliv diety** – odběr nalačno (10-12 hodin hladovění), na některé analýzy nutná speciální dieta
- **vliv léků** – interference léků se může uplatnit více mechanismy: chemický (vstupuje do reakce), biologický (indukce jaterních enzymů-barbituráty), farmakologický (podání stanovené látky hormony, vitamíny).
- **vliv alkoholu, drog, kofeinu a kouření:**
 - **alkohol**, akutní vlivy – snížení glukosy, zvýšení laktátu, chronická konzumace – zvýšení ALT, AST, GMT, cholesterolu některých hormonů
 - **drogy** – zvýšení některých enzymů a hormonů, snížení inzulinu, kreatininu, glukosy, kyseliny močové
 - **kofein** – zvyšuje glukosu, neesterifikované mastné kyseliny, katecholaminy
 - **kouření** – zvyšuje se glukosa, cholesterol, aldosteron, kortizon, CEA
- **nadmořská výška** – u osob pobývajících ve výškách nad 3000 m dochází k adaptaci na výšku. Zvyšuje se počet erytrocytů, hematokrit, hemoglobin CRP a uráty. Snižuje se plasmatická koncentrace estriolu, reninu a transferinu, snižuje se osmolalita séra a koncentrace močového kreatininu
- **stres** – projevuje se u pacientů nejen před výkonem, ale i před vlastním odběrem. Zvyšuje se sekrece některých hormonů (renin, aldosteron, kortizol, katecholaminy prolaktin, TSH aj.), albuminu, fibrinogenu, glukosy, inzulinu, laktátu, cholesterolu. AIM snižuje hodnotu cholesterolu až o 60%. Významným stresem je probuzení, proto se např. doporučuje odběr prolaktinu až 3 hodiny po probuzení.

3. Zdroje variability při odběru

- **načasování odběru krve** – obvyklá doba odběru mezi 7-10 hodinou ranní, speciální načasování u funkčních testů nebo monitorování hladin léků s ohledem na poločas eliminace
- **poloha při odběru** – standardní poloha vsedě po dobu 15 minut před odběrem, delší interval např. u BNP (20-30 minut). Ve vzpřímené pozici stoupá hydrostatický tlak, přesun vody a iontů z plazmy do intersticia, zvýšení proteinů a elementů, které stěnou neprocházejí – zahuštění plazmy. Rozdíl v koncentraci proteinů ve vzpřímené poloze oproti vsedě 5-8%, oproti vleže kolem 10% ale i 20%. Vzestup se týká i látek vázaných na proteiny (Ca, cholesterol), lipoproteinů, hormonů, léků aj. pro vyšetření osy renin-angiotenzin-aldosteron nutný noční odpočinek vleže bez jakékoliv změny před odběrem.
- **výběr místa odběru** – standardně z loketní žíly, nevhodná k odběru jsou místa s hematomem, velkými jizvami, paže se zavedenou infuzí.
- **použití škrtidla** – usnadňuje odběr, ale vede k ovlivnění kvality vzorku (již po jedné minutě se přesune do intersticia významné množství vody s ionty, zvýšení koncentrace proteinů a látek na ně vázané. Doba použití turniketu do 15 sekund v žádném případě ne více jak 1 minutu.
- **cvičení paží** – při použití turniketu zvyšuje draselný kationt. Cvičení paží se obecně při odběru venozní krve nedoporučuje.
- **vliv protisrážlivých činidel** – volba vhodného protisrážlivého činidla, dodržení správného poměru mezi krví a protisrážlivým činidlem
- **kontaminace dezinfekčním činidlem** – přichází hlavně v úvahu při kapilárním odběru, vliv při stanovení pH
- **kontaminace intersticiální tekutinou** – při kapilárním odběru, kdy je krev vypuzována nadměrným tlakem v okolí vpichu (první kapku krve **nutno** odstranit)

- **kontaminace infuzí** – nedoporučuje se odběr z katétru ani ze stejné ruky kde je zaveden (možnost zředění vzorku aplikovanou infuzí nebo heparinovým zámkem. Při použití heparinového zámků je i po jeho odstranění silně ovlivněno vyšetření koagulací). Jediným bezpečným způsobem je odběr žilní krve z opačné končetiny.
- **hemolýza** – nejčastější ovlivnění výsledků laboratorních vyšetření, uvolňování látek z hemolyzovaných erytrocytů a analytická interference vlivem zabarvení séra nebo plazmy (nejčastější příčiny hemolýzy: přílišné utažení nebo mačkání končetiny, stopy dezinfekčních přípravků, vlhká jehla nebo stříkačka, přílišné tažení pístu stříkačky, prudké vytlačení krve ze stříkačky do zkumavky)

4. Zdroje variability mezi odběrem a analýzou

- **vliv srážení** – vzorek na biochemická vyšetření nechat 30 minut stát, aby došlo k dokonalému vysrážení, využití aktivátorů srážení v odběrových nádobkách. Špatný poměr protisrážlivých činidel (může dojít k částečnému vysrážení vzorku) zkresluje nebo znemožňuje vyšetření krevních obrazů včetně diferenciálu a koagulací
- **vliv konzervačních látek** – interference s analytickou metodou, změna matrice vzorku, ovlivnění analýsy aj.
- **vliv materiálu odběrové nádoby** – pro většinu analytů není rozhodující zda použít plast nebo sklo, u speciálních metod nutné otestovat materiál odběrových nádobek, některé látky (kortikotropin, léky) se vážou na sklo
- **transport** – doporučená doba dodání do laboratoře je do 2 hodin po odběru. Transport musí být rychlý, šetrný a adekvátní teplotě a světelným podmínkám
Vzorky do smluvních laboratoří v Trutnově nebo Hradci Králové jsou odesílány převážně separované, chlazené nebo v zamraženém stavu podle jednotlivých analytů.

chyby při transportu:

- příliš dlouhá doba mezi odběrem a doručením do laboratoře, resp. oddělením séra (hemolýza, pokles nebo vzestup koncentrace některých analytů)
- moč – časová prodleva mezi vymočením a dodáním, transport v teple – růst bakterií, rozpad elementů
- nepoužívání konzervačních prostředků u sbíraných močí
- transport a skladování v teple a na světle
- **separace** – sérum (plazma) by měly být odděleny nejpozději do 2 hodin po odběru. Pro oddělení séra (plazmy) od krevních elementů: centrifugace 5-10 minut při 1000 – 2000 g (tj. asi 2700 -3500 ot./min, při pokojové teplotě). Zvýšení času nebo počtu otáček vede často k hemolýze. Předčasné oddělení séra (dříve než 20 minut po odběru) může vést k dodatečné tvorbě fibrinu = pocentrifugační koagulace
- **ostatní vlivy** – změna analytu v čase (uvedeno u jednotlivých vyšetření v LP), vliv chladových a tepelných protilátek

5. Odběrová místa a příjem materiálu

OKBH budova G , nemocnice, Vrchlického 1504, Dvůr Králové n.L., tel. 499300615

odběry: Po – Pá 7,00 – 10,00 hodin

příjem materiálu: do 11 hodin, STATIM a ústavní služba - nepřetržitě

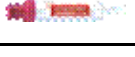
odběrová místnost, nová poliklinika, Roosweltova, Dvůr Králové n.L., tel. 499329602, provolba z nemocnice 3491

odběry: Po – Pá 7,00 – 11,00 hod

příjem materiálu: Po – Pá do 11 hodin

Svoz materiálu Po-Pá, 3x denně (7,45, 9,45 a 11,00 hod) dodávkou nemocnice z pravidelných svozových míst (nová poliklinika, stará poliklinika, ordinace MUDr. Vaisové, dětské středisko), ostatní po telefonické domluvě na tel 499300611 (vrátnice).

6. Používané odběrové systémy

Biologický materiál	Typ odběrové zkumavky VACUETTE	Použití
srážlivá žilní krev 	zkumavka s dělicím gelem, červené víčko se žlutým vrškem (5 a ml)	biochemická a imuno- chemická vyšetření
nesrážlivá žilní krev 	zkumavka s fialovým víčkem, K2ÉDTA (2 ml)	krevní obraz, diferenciál, glykovaný hemoglobin
nesrážlivá žilní krev 	zkumavka s modrým víčkem, Na-citrát 0,192M, (2 ml)	koagulační stanovení, etanol
nesrážlivá žilní krev 	zkumavka s fialovým víčkem, K2EDTA (6 ml)	KS, kompatibilita, scr. protilátek, typizace
nesrážlivá žilní krev 	zkumavka se šedým víčkem, NaF/K-oxalát, (2 ml)	glykémie na oGTT laktát
nesrážlivá žilní krev 	zkumavka s černým víčkem, Na-citrát 0,102M	sedimentace
srážlivá žilní krev 	zkumavka s červeným víčkem a černým vrškem (6 ml)	mikrobiologie
moč 	PP zkumavka se žlutým víčkem, 10 ml	moč chemicky, sediment, odpady
sbíraná moč	plastová láhev bez konzervace	běžná biochemická analýza moče
nesrážlivá krev 	monovette Tromboexact (Sarstedt)	trombocyty - přítomnost agregátu trombocytů
Moč	zkumavky Sorwall + růžové víčko	nativní moč, AMS, ACR, osmolalita
Ostatní odběry		
nesrážlivá krev	injekční stříkačka s heparinem (2 ml) plastová kapilára (130 µl),	ABR, COOHb, MetHb
kapilární krev (hemolyzát) 	Zkumavka Eppendorf s hemolyzačním roztokem (dodává OKBH)	glykemie
stolice 	zkumavky FOB Gold Tube, 1,7 ml roztoku + návodem k použití vydá OKBH	stanovení hemoglobinu ve stolici
Otevřený systém TAPVAL		
nesrážlivá žilní krev	zkumavka s fialovým víčkem, K3EDTA. (0,5 ml)	krevní obraz, diferenciál

7. Pokyny před odběrem

Před odběrem biologického materiálu nutno dodržet tato pravidla:

- nalačno 10-12 hodin, omezit příjem tekutin, pít jen čistou vodu bez bublin, bez příchuti a neslazenou
- vyloučit alkohol a tabákové výrobky
- omezit tělesnou aktivitu na minimum
- vyvarovat se stresu
- pokud to lze vyloučit léky podle pokynů ošetřujícího lékaře
- pokud to lze vyloučit odběr v době menstruace

základní údaje uváděné na žádance:

- příjmení, jméno a tituly pacienta
- číslo pojištěnce – rodné číslo nebo číslo pojistky
- kód pojišťovny, samoplátce
- základní a další diagnózy
- identifikace žadatele – razítko musí obsahovat: oddělení, jméno lékaře, IČZ, odbornost, adresa a telefon
- podpis žadatele
- požadovaná vyšetření

- datum a čas odběru
- pro některá vyšetření výška, hmotnost, čas a diuréza sbírané moči
- urgentnost vyšetření u statimových a vitálních vyšetření

8. Množství biologického materiálu

základní biochemické a imunochemické vyšetření	5 ml srážlivé žilní krve (gel)
glukoza, oGTT, laktát (plazma)	2ml, nesrážlivá krev, šedá
odběry na biochemické a imunochemické vyšetření TU a HK	5 – 8 ml srážlivé žilní krve (gel), podle počtu požadavků
vyšetření na mikrobiologii	5 – 8 ml srážlivé žilní krve bez gelu
panel hepatitid	2 zkumavky srážlivé krve bez gelu
krevní obraz a glykovaný hemoglobin	2 ml nesrážlivé krve (K2EDTA)
koagulace	2 ml, nesrážlivá krev (citrát), zachovat poměr krev:citrát
krevní plyny	2 ml do stříkačky s heparinem. 130 µl do heparinizované kapiláry
moč chemicky a sediment, ACR	10 ml ranní moče (malé děti 5 ml)
moč na odpad iontů, bílkovin, kreatinin clearance	celý objem nebo 5 ml dobře promíchaného vzorku + diuréza

9. Odběry biologického materiálu

9.1 odběr venózní krve

před odběrem:

- příprava příslušných žadanek, identifikace pacienta, požadovaná vyšetření
- příprava odběrových pomůcek (stojánky, zkumavky, jehly, dezinfekce, tampony, náplast aj.)
- příprava odběrových zkumavek podle požadovaných vyšetření
- řádné označení zkumavek
- kontrola identifikace pacienta

odběr:

- příprava pacienta, seznámení s postupem odběru, zklidnění
- zajištění správné polohy paže (podložení opěrkou) – vyloučit loketní flexi
- použití škrtidla – méně jak 1 minuta, umístit 7-10 cm nad vpichem
- posouzení kvality žilního systému v loketní jamce
- dezinfekce místa vpichu, osušení dezinfekčního prostředku
- stabilizace polohy žíly palcem
- správná poloha jehly při vpichu – úhel mezi povrchem paže a odběrovou zkumavkou má být asi 15°, provedení venepunkce
- uzavřený odběrový systém - škrtidlo odstraníme ihned jak se objeví krev ve zkumavce a odebereme potřebný počet zkumavek na jednotlivá stanovení, pořadí odběrových zkumavek z jednoho vpichu:
 - modrá – koagulace
 - červená – sérová zkumavka bez aditiv, mikrobiologie
 - červená – sérová zkumavka s gelem
 - fialová – stanovení z plazmy, KS, kompatibilita
 - fialová – KO, gHb

- černá – sedimentace
 - ostatní
- odběry z centrálních kanyl a katetrů – první odebraná zkumavka se zlikviduje (neposílat do laboratoře)
- místo vpichu i s jehlou se zakryje čtverečkem, jemně na něj zatlačíme a pomalým tahem odstraníme jehlu ze žíly, necháme pokrčenou paži asi po dobu 5 minut a poté místo vpichu zalepíme

Všechny zkumavky s přísadami ihned po odběru jemně převrátit o 180° minimálně 5-6x (NETŘEPAT!)

- jehly a jednorázové stříkačky umístit do kontejneru (při všech manipulacích s jehlami dbáme zvýšené opatrnosti, aby nedošlo k poranění)
- doba a čas odběru se poznamená na žádanky a do laboratoře se odešlou správně označené zkumavky společně s odděleně uloženými žádankami

9.2 odběr kapilární krve

Provádí kvalifikovaný a zaškolený personál na lůžkové i ambulantní části. Postup při odběru:

- dostatečné prokrvení bříška prstu
- dezinfekce, oschnutí dezinfekčního prostředku (jinak hemolýza)
- výběr lancety se správnou hloubkou vpichu (hloubka vpichu ne více jak 3 mm)
- **odstranění první kapky krve** – zabrání se kontaminaci tkáňovým mokem
- vyloučit mačkání prstu
- nestírat kapky o stěnu odběrové nádoby
- kapiláry bez vzduchových bublin, u glykemií vložit ihned do systémového roztoku, u ABR vložit míchadlo, kapiláru uzavřít a ihned promíchat
- správné označení odebraného materiálu

9.3 odběr arteriální krve

Provádí kvalifikovaný pracovník na lůžkovém oddělení do originálních stříkaček s heparinem z a. radialis nebo a. femoralis. Po odběru nutné okamžitě vypudit všechny vzduchové bubliny, nasadit klobouček a krev nakláněním promíchat (netřepat). Odběr na stanovení parametrů ABR.

9.4 o-GTT

Provádíme v Po – Pá, hospitalizovaní pacienti kdykoliv, ambulantní po objednání na tel: 499300615. Minimální doba hladovění před testem 10 – 12 hodin. Test začínáme v 6,45 hodin ráno poučením pacienta o průběhu testu. Odběr krve nalačno ze žíly, je-li hodnota glukosy v plazmě nalačno vyšší jak 7 mmol/l, u těhotných vyšší jak 5 mmol/l test neprovádíme! Podání roztoku glukosy, odběr ze žíly za 2 hodiny po podání glukosy u těhotných za 1 a za 2 hodiny.

9.5 moč

a) moč chemicky+ sediment

Dodat minimálně 10 ml první ranní moče tzv. střední proud po důkladné očištění genitálu (první proud do záchodu, střední proud do zkumavky a zbytek do záchodu). Vzorek je nutné doručit do laboratoře maximálně do 2 hodin po vymočení.

b) sbíraná moč za 24 hodin

Se sběrem se začíná v 6 hodin ráno, pacient se vymočí mimo sběrnou nádobu. Veškerá moč se po dobu 24 hodin shromažďuje ve sběrné nádobě umístěné v chladu, naposled se vymočí do nádoby v 6 hodin ráno následujícího dne. Celý obsah sběrné nádoby důkladně promíchat, změřit se objem s přesností na 10 ml, na žádanku zapsat diurézu a čas sběru, u kreatinin clearance hmotnost a výšku. Do laboratoře dodat 10 ml moče.

c) Hamburgerův sediment

Sběr ráno 3 hodiny, tolerance $\pm 0,5$ h. V čas zahájení sběru se pacient vymočí mimo sběrnou nádobu, po třech hodinách se vymočí naposledy do sběrné nádoby, čas sběru uvést s přesností na

minuty. Sběrná nádoba musí být čistá, suchá a uzavíratelná. Během sběru by měli dospělí vypít 200-300 ml tekutin. Sběrnou nádobu s celým obsahem moče doručit do laboratoře do 1 hodiny po ukončení sběru. Je-li objem pod 30 ml nebo nad 300 ml vyšetření neprovádíme, podezření na špatný sběr.

d) Albumin v moči, Nordinův index

Ranní moč 5 ml

10. Nejčastější chyby při odběrech

- dlouhodobé stažení paže škrtidlem nebo intenzivní cvičení paží
- nedostatečné prokrvení místa odběru při odběru kapilární krve
- znečištění pokožky nebo jehly dezinfekčním prostředkem
- použití jehly s nevhodným průsvitem (příliš tenká)
- použití nevhodné lancety pro kapilární odběr (malá hloubka vpichu)
- nasátí vzduchových bublin do kapiláry při odběru na glykémie nebo ABR
- stírání kapek o hranu zkumavky při kapilárním odběru
- prudké vystříknutí krve (nebo s nasazenou jehlou) do zkumavek při použití otevřeného systému
- nedostatečné promíchání krve v nádobkách s protisrážlivými činidly
- prudké třepání krve ve zkumavce
- odběr ze stejné ruky při zavedené infuzi
- nedodržení hladovění před odběrem (na žádanku napsat po jídle)
- užívání léků – vyznačit léky, které nebyly vysazeny
- nedodržení poměru činidlo /krev do zkumavek s přísadami (KO, koagulace, glykémie, FW)
- uskladnění plné krve v lednici ihned po odběru