

PREANALYTICKÁ FÁZE

Preanalytická fáze zahrnuje všechny procesy od poučení pacienta o odběru až po zpracování alikvotů pro vlastní analýzu. Vlastní analýza je pak již otázkou analytické fáze.

Výsledek naměřený v rámci analytické fáze může do značné míry být ovlivněn chybami v průběhu preanalytické fáze – chyby mohou vzniknout téměř v jakékoli etapě preanalytické části.

- 1) Chování pacienta před odběrem – výsledek může být ovlivněn nedodržením lačnění, konzumací návykových látek a alkoholu, nadměrnou fyzickou aktivitou pacienta, v některých případech konzumací některých potravinových doplňků
- 2) Kvalita odběru a správné označení odběrové nádoby – u krve může dojít k hemolýze, nemusí být odebráno dostatečné množství materiálu, kontaminace vzorku dezinfekčním činidlem, u odběru likvoru napíchnutí cévky a tím čerstvá krev ve vzorku, u sběru moči – nedodržení skladování moči v chladu, ...)
- 3) Transport materiálu – špatné zacházení se vzorky může vést k poškození obalů, při velkém třepání se vzorky krve může dojít k hemolýze, nedodržení správné teploty uchovávání vzorku může dojít k degradaci některých analytů, dostatečně rychlý transport, ...
- 4) Uchovávání vzorků – je nutno dodržet skladování vzorků za podmínek, kdy je analyt stabilní (tedy dodržet správnou teplotu skladování (4°C vs. -20°C vs. -80°C)); dodržet správnou skladovací nádobu (při -80°C není možné vzorek skladovat v eppendorfkách, jsou potřeba tzv. kryozkumavky)
- 5) Preanalytické zpracování vzorku – správné podmínky centrifugace krve (nutno nechat odstát 15 minut plazmu, 30 minut serum; správná teplota stáčení), správně provedené zpracování vzorku k analýze – např. deproteinace, separace určité frakce, apod.)

Druhy odebíraného biologického materiálu: krev, moč, stolice, plodová voda, mozkomíšni mok, synoviální tekutina, výpotky, sliny, tkáň (biopsie), hnis, vlasy, nehty

Příprava pacienta na odběr:

- a) Poučení pacienta o odběru – lékař by měl pacientovi vysvětlit vše potřebné o odběru (rizika odběru, potřeba lačnění, vysadit/nevysadit léky, chování před odběrem – omezení fyzické aktivity, nepožívání alkoholických nápojů a drog, omezení kouření)
- b) Vlastní příprava pacienta na odběr – záleží na druhu odběru:

Krev: před odběrem identifikujeme pacienta, ujistíme se, že pacient dodržel požadovaná dietní opatření; pacient by měl zaujmout polohu vsedě (zklidnění) nejméně 20 min. před odběrem;

zjistíme, zdali pacient nemá alergii (na dezinfekci, na náplasti apod.) a jestli nemá tendenci omdlívat, zda neužívá léky na ředění krve.

Moč: omytí genitálu

Likvor: zaujmutí správné polohy pro odběr (skrčená poloha, nohy k bradě – ať už v sedě, či v leže na boku), umrtvení místa vpichu

Odběr:

1) Krve

dle způsobu (zdroje) odběru:

a) Venózní

- nejčastěji odebírána krev z loketní žíly
- používáme uzavřené (nejlépe vakuované) odběrové systémy
- vakuové zkumavky mají barevně označené zátky a to podle přídatku antikoagulačních a stabilizačních látek
- na každé zkumavce se uvádí použité aditivum spolu s jeho množstvím a je vyznačená plnicí ryska
- odebírá-li se více zkumavek různých typů, mělo by se nabírat v pořadí:
 - zkumavky bez aditiv (přísad)
 - zkumavky pro vyšetření hemokoagulace
 - zkumavky pro sedimentaci
 - zkumavky s aditivou (přísadami)
- pro usnadnění odběru se používá většinou turniket (Esmarchovo zaškrcovadlo) - je třeba ho uvolnit ihned po odkápnutí první kapky krve do zkumavky. - delší zaškrčení (nad 3 min.) vede ke změnám hladin některých analytů
- zaškrcovadlo se nesmí použít při odběru na stanovení laktátu
- cvičení se zařatou pěstí se dnes již nedoporučuje (vede ke zvýšení hladin např. draslíku či laktátu)
- místo vpichu se dezinfikuje
- žíla by se měla napichovat až po úplném oschnutí dezinfekčního prostředku, aby nedošlo k hemolýze
- úhel mezi paží a stříkačkou by měl být asi 15°

- všechny zkumavky s aditivy se musí ihned po odběru dokonale promíchat jemným opakovaným obracením zkumavky, nedostatečné promíchání může ovlivnit laboratorní výsledky

b) arteriální

- pro odběr se doporučuje buď radiální arterie na zápěstí, brachiální na loktu nebo femorální v tříse
- u novorozenců je nejvhodnější odběr z katétru zavedeného do pupečnickové arterie
- odběr provádí lékař
- arteriální krev se využívá ke stanovení krevních plynů
- odběr arteriální krve se někdy nahrazuje odběrem krve **arterializované** (kapilární krev odebraná z prohřátého prstu nebo ušního lalůčku).
- důležitý je anaerobní průběh odběru

c) kapilární

- provádí se při potřebě malého množství krve
- vhodným místem vpichu je bříško třetího nebo čtvrtého prstu, ušní lalůček a u novorozenců pata
- po oschnutí dezinfekčního prostředku se provede vpich cca 2,5 mm, první kapka se odsaje buničinou, další se nasají kapilárním efektem do heparinované kapiláry
- ve vzorku nesmí být bublinky vzduchu
- prst zásadně nemasírujeme
- není doporučován u pacientů se špatným krevním oběhem

dle přidaných látek k odebírané krvi:

a) sérum (bez přidaných antikoagulantů) = srážlivá krev:

- získáme ze spontánně sražené krve
- tj. aktivace koagulační kaskády – přeměna fibrinogenu na fibrin – vysrážení krve
- odběr do čisté zkumavky (bez antikoagulantu)
- dnes zkumavky s gelem – ulehčení oddělení krevních složek od séra
- využívá se pro velkou většinu stanovovaných látek

b) nesrážlivá krev (s přídavkem antikoagulantu)

- používá se na přípravu:
 - krevní plazmy
 - separaci erytrocytů (stanovení enzymů, GSH, fosfolipidů)

- celá tzv. plná krev (krevní plyny, některé stopové prvky, glykovaný hemoglobin, NH₃, laktát, hematologická vyšetření)
- odběr do zkumavky s přídavkem antikoagulantu – tj. zabrání se aktivaci koagulační kaskády – krev se nesrazí

ANTIKOAGULANTY

1. zabraňují srážení krve prostřednictvím vazby s Ca²⁺
 - EDTA (kyselina etylen-diamin-tetraoctová) – chelatační činidlo pro ionty 2+ až 4+
 - Citrát sodný – chelatační činidlo pro Ca²⁺
 - Oxaláty (šťavelany) - způsobují snížení hematokritu, inhibují aktivity některých enzymů (např.: kyselá fosfatázy, amylázy, laktátdehydrogenázy)
2. zabraňují přeměně protrombinu na trombin
 - Heparin (mukoitinpolysulfát) – pozor inhibuje aktivitu některých enzymů (např.: kyselá fosfatasy, laktátdehydrogenasy)

Faktory ovlivňující složení odebrané krve

- místo odběru (kapilární x venózní x arteriální)
- typ krve (srážlivá x nesrážlivá)
- hemolýza – kontaminace séra/plazmy obsahem prasklých erytrocytů
- chylózní sérum (výrazně zvýšeny triacylglyceroly - způsobující mléčný zákal)
- ikterické sérum (zvýšen bilirubin - způsobuje intenzivně žluté zbarvení)

2) Moči (součást otázky č. 3)

I. Jednorázový odběr moči

- nejčastěji je vyšetřována **první ranní moč**
- odebrán by měl být **střední proud** moči do naprosto **čisté nádoby** (bez čistících nebo dezinfekčních prostředků)
- **střední proud** = necháme odtéct prvních cca 10 ml moči mimo odběrovou zkumavku a do odběrové nádoby odebíráme až následující ml moči
- Střední proud se odebírá proto, že prvních 10ml slouží k propláchnutí močové trubice a odplavení nežádoucích elementů (epitelové buňky, bakterie v močové trubici, ...)
- vzorek první ranní moči je považován za nejkonzentrovější, proto se používá pro mikroskopická vyšetření (vyšetření močového sedimentu) a pro stanovení koncentrace

některých složek (proteinů, hormonů) a též pro bakteriologické vyšetření močového měchýře

- při zánětu močové trubice se na bakteriální vyšetření odebírá prvních 10 ml moči

II. Sběr moči

- před začátkem sběru je důležité zcela vyprázdnit močový měchýř a dále po určenou dobu sbírat moč do jedné nádoby

Př.: 24 hodinový sběr: první ranní moč prvního dne sběru vyčůráme mimo sběrnou nádobu, poté veškerou vyprodukovanou moč sbíráme do sběrné nádoby, sběr je poté ukončen druhý den odběrem první ranní moči.

- nádoba s celkovým sběrem by po dobu sběru měla být uchovávána v lednici (při vyšší teplotě se množí bakterie)
- je třeba zamezit ztrátám moči při stolici
- moč se obvykle sbírá po dobu 2, 6, 8, 12 nebo 24 hod.
- po ukončení sběru je změřen objem, moč promíchána a reprezentativní vzorek odeslán k analýze.
- před začátkem sběru je třeba seznámit pacienta s dietním doporučením a užíváním léků v průběhu tohoto sběru

3) Likvor

- = lumbální punkce (napíchnutí páteřního kanálu mezi 3. a 4. nebo 4 a 5. bederním obratlem)
- pacient je při odběru v pozici buďto vleže na boku, pokrčená kolena přitažená k hrudníku nebo vsedě v předklonu pokrčená kolena
- místo odběru se řádně vydezinfikuje a znecitliví lokálními anestetiky podanými subkutánně
- po vpichu se změří tlak likvoru (normální tlak činí 70–200 mm), likvor necháváme samovolně kapat do sběrné zkumavky, odebírá se co nejmenší možné množství (3-4 ml)
- po ukončení odběru se místo vpichu komprimuje
- spolu s odběrem likvoru se provádí i odběr zkumavky srážlivé krve (cca 30 minut před punkcí)
- do laboratoře je nutno likvor doručit ihned po odběru (nutno stočit do 1hodin od odběru)
- pokud má být stanovována hladina glukózy je nutno přidat přídavek **antiglykolického činidla** (NaF, jodoacetát)

- některá vyšetření se musí provést do 1 hodiny od odběru, cytologie se provádí z nezcentrifugovaného likvoru
- při dlouhém stání po odběru dochází k falešnému poklesu koncentrace glukózy a zvýšení koncentrace laktátu
- při odběru se posuzuje vzhled a tlak likvoru
- pokud při odběru dojde k poranění žilních pletení kolem míchy, počáteční růžové zbarvení mozkomíšního moku se postupně vyčeří (odebírají se pak minimálně 3 zkumavky)

Transport:

- by měl být zásadně šetrný a rychlý (nutnost oddělení plazmy nebo séra od krevních buněk nejpozději do 2 hodin od odběru)
- veškerý biologický materiál se do laboratoře přepravuje v uzavřených odběrových nádobách při adekvátní teplotě a světelných podmínkách
- některý biologický materiál (mozkomíšní mok, plodová voda) je vzhledem ke značné zátěži pacienta při jeho odběru nutné doručit do laboratoře maximálně do jedné hodiny od odběru, aby nedošlo k jeho znehodnocení – považován za STATIM vyšetření
- moč na morfologické vyšetření močového sedimentu rovněž nesmí být starší než jedna hodina

Žádanky a označení odebraného materiálu:

Žádanky jsou různé podle druhu vyšetření:

- a) screeningová vyšetření – neakutní, běžná vyšetření, kdy nejde o vitální indikaci
- b) statimová vyšetření – akutní (provádí se ihned po odběru – nejpozději musí být hotovo do 2 hodin po odběru)

dále jsou různé podle druhu laboratoře (biochemie, hematologie, imunologie, mikrobiologie, sérologie, virologie, toxikologie, patologie)

- některé mají předtištěné metody, které se zaškrťávají dle potřeby pracoviště a podle požadovaných vyšetření
- některé mají volné rubriky, kam lékař vpisuje požadavky

Všechny žádanky musí být řádně vyplněny (při příjmu materiálu do laboratoře nutno zkontrolovat, jestli je žádanka řádně vyplněná a obsahuje všechny nezbytné údaje): jméno +

příjmení pacienta, rodné číslo, pojišťovna, diagnóza, datum a hodina odběru, druh materiálu, razítko a IČO lékaře.

V laboratoři si poznamenejte čas příjmu vzorku do laboratoře – je to pro vaši ochranu!!