

Biologické materiály k biochemickému vyšetření

RNDr. Bohuslava Trnková, ÚKBLD 1. LF UK

Správný odběr vzorku - první předpoklad
k získání správného výsledku

preanalytická fáze

analytická fáze - vlastní stanovení

postanalytická fáze - chemická kontrola metody,
lékařská kontrola, tisk a zápis dat, dodání
výsledku lékaři

Záměna vzorků - nejčastější preanalytická chyba

Biologický materiál –

- vždy potenciálně infekční
- nutno dodržovat všechny podmínky bezpečnosti práce (používání rukavic, vakuové odběrové systémy, desinfekce pracoviště po skončení práce, zákaz jídla, pití a kouření na pracovištích)

Stanovení látek v krvi a moči

chemické, imunochemické, turbidimetrické, elektroforetické a další speciální metody.

Moč

fyzikální, chemické a mikroskopické vyšetření

Likvor

fyzikální, chemické a mikroskopické vyšetření

Žaludeční a pankreatická šťáva
z hlediska klinické biochemie fyzikálně a chemicky

Stolice
imunochemické testy

Exsudát a transudát - speciální testy na rozlišení.

Složení močových kamenů, sliny (drogy), plodová voda (genetické vady), sperma (imunologické metody), pot (chloridy, drogy, proteiny).

Odběr a zpracování krve

krev - nejčastější odebíraný vzorek

Odebírá se krev venosní, kapilární a arteriální

Odběr krve - sterilní jehly na jedno použití

pro obtížné odběry - jehly s křidélky (modré, zelené), jehla s krytím

držák, z druhé strany - zkumavky

Lancety - pro kapilární odběry

Odběr venosní krve

poučení pacienta - 10 – 12 hodin nalačno, neměl by kouřit, pít alkohol, nevykonávat fyzicky náročnou činnost, obvyklý odběr je mezi 6 – 9 hodinou ranní.

speciální dieta

nejvhodnější **poloha** při odběru - vsedě, až pololeže, vhodný - i krátký naprostý **fyzický klid**.

Nerozhoduje, z které ruky se odběr dělá, pozor na modřiny, u žen mastektomie (chirurgické odnětí prsu).



Speciální pozornost

odběry při infusích, z kanyly, z portu.

Kůže v okolí místa odběru (kubitální žíla v loketním ohbí) se **desinfikuje** vhodným prostředkem (Cutasept, Septonex, 70 % isopropylalkohol, pozor na případné ovlivnění výsledku).

stékající desinfekce - volně zaschnout, otřít
čtverečkem buničiny (vlhká kůže - hemolýza)

Paže - natažená směrem dolů, turniket alespoň 2,5 cm
široký, přiložený ve výši 10 – 15 cm nad loktem,
ne déle než 1 min.

Paží se necvičí, zatnout pěst (po 5 min – přesun vody
a nízkomolekulárních látek přes kapilární stěnu,
změna aerobního metabolismu na anaerobní, změny
koncentrace nebo katalytické koncentrace některých
analytů (K⁺, laktát, cholesterol, bilirubin, ALT, AST,
CK, LD)..

U starších dětí

odběr ze žíly stejným postupem

děti musí být klidné (strach a stres - zkreslení
výsledku (*zvýšený adrenalin* → *glukosa*))

U mladších dětí a novorozenců

lépe provádět odběr kapilární krve
mikrozkumavky a lancety



Po odběru - sterilní čtvereček buničiny přiložit na vpich, stlačit na 2 – 3 min.

Po odběru krve - pacient by neměl vykonávat fyzicky náročnou činnost a odběrovou paži zatěžovat

Odebírá se do skleněných i plastových zkumavek (skleněné - rychlejší sražení krve x zkreslení výsledků)

Obsah zkumavek s protisrážlivými činidly okamžitě po odběru **dobře promíchat** pomalým desetinásobným převrácením uzavřené zkumavky, (mikrosraženiny)

netřepat! - mechanická hemolýza, denaturace bílkovin, snížení aktivity enzymů

vakuové odběrové systémy - barevně odlišené zátky podle druhu přídatku ve zkumavce. Barvy se liší podle výrobců - **kontrola typů zkumavek**

více typů vyšetření - odběr do více zkumavek

1. zkumavky bez přísadků
2. zkumavky s citrátem na koagulační faktory,
3. zkumavky s heparinem,
4. zkumavky EDTA pro krevní obraz
5. zkumavky s inhibitory glykolýzy

U vakuových systémů je nutné vyčkat, až **ustane nasávání krve** (předčasné vysunutí - množství krve menší → porušení správného poměru krve k protisrážlivému činidlu

komplexotvorné působení některých činidel a druh kationtů (lithné či amonné soli).

Sérum

z plné krve, 30 min stání, sražení, centrifugace 5 - 10 min při 2000 g, oddělení krevního koláče a séra

Plasma - antikoagulační látky - centrifugovat okamžitě, obvykle 15 min, navíc fibrinogen a ostatní koagulační faktory

Zkumavky se zvláštními separačními gely
údaje výrobce, vliv při stanovení některých analytů.

Zkumavky **není** možné stáčet opakovaně
krvinky musí být **odděleny** do ½ h po stočení

Hodnocení séra

hemolytické (*rozpad erytrocytů*), **ikterické** (*vyšší koncentrace bilirubinu*), **chylosní** (*vyšší obsah lipoproteinů*).

Odběr kapilární krve.

- potřeba malého množství materiálu, opakovaný odběr v krátkém čase (*diabetici, ABR*).
- výhodný - u novorozenců a nedonošenců
- z bočních stran patičky nebo prstu, méně vhodný odběr z ušního lalůčku nebo z palečku na noze
- kůži prohřát přiložením zahřáté látky, desinfikovat 70 % vodným roztokem isopropylalkoholu, osušit sterilním čtverečkem, opatrně vpichovat jehlu
- hloubka vpichu na patičce < než 2,4 mm (narušení kosti, zvláště u nedonošenců)

- **první kapka - otřít**, (vyšší procento tkáňového moku), nabírat z další kapky (nemnout, nevymačkávat krev)
- zkreslení i u pacientů se špatným krevním oběhem a nedostatečným prokrvením periferie
- **nejčastější odběr** - ze strany třetího nebo čtvrtého prstu nepíšící ruky
- krev se **nasává do špičky pipety** nebo do heparinizované kapiláry
- **anaerobní odběr** - vniknutí bublinek vzduchu změna poměru plynů, uvolnění NH_3
- **obsah promíchat** (drátek a magnet)
- **odběr kapilární krve u metod POCT.**

Odběr arteriální krve
rizikový odběr, lékař nebo proškolený personál

Anaerobní odběr do heparinizovaných kapilár na
vyšetření acidobazického stavu a NH_3
vakuové systémy.

Transport a uchovávání vzorku krve

- přesun označeného vzorku s přiloženou žádankou do laboratoře – neprodlený (plná krev)
- chránit před mrazem, přehřátím (ovlivnění enzymů) i světlem (odbourávání bilirubinu, porfyrinů, folátů)
- do vzdálenějších laboratoří - vhodnější odesílat sérum nebo plasmu
- ve speciálních případech transport na tajícím ledu (ABR, NH_3)
- speciální stanovení – požadavky laboratoře

Sběr a konzervace moče

- dodržení základních hygienických požadavků
- čistota a označení odběrové nádoby,
- střední proud ranní moče
- jednorázový odběr - první ranní moč, střední proud po hladovění, nejvíce koncentrovaná prvních 10 ml moče je nejvhodnější pro stanovení chorob ledvin
- cévkovaná moč

Sběr moče_- 3, 12, 24 hod.

- pro kvantitativní stanovení (Addisův sediment, minerály, kreatinin, hormony)
- provedení (začátek, konec sběru)
- konzervace – chlad, HCl, tymol, formaldehyd (ne pro chemická a mikrobiologická vyšetření), toluenem, chloroformem (několik ml)

Žaludeční šťáva

- bezbarvá tekutina, silně kyselá (pH 1,2 - 3,0), 2 sekrety obsahující prekursory proteolytických enzymů (pepsinogeny), HCl
- získává se pomocí žaludeční sondy

stimulační test - odběry po podání pentagastrinu (na lačno koncentrace skoro nulová, po stimulaci max. asi za 40 min., 12 - 20 mmol/l/hod.) → stanovení sérového pepsinogenu

Pankreatická šťáva

- vylučována do duodena pod vlivem potravy a hormonů, výrazně alkalická (pH 7,1-8,3) obsahuje anorganické (hydrogenfosfáty) a organické látky (enzymy: trypsin, chymotrypsin, elastáza, karboxypeptidázy, α -amyláza, lipáza, DNA- a RNA- nukleáza, vylučovány jako neaktivní proenzymy)
- získává se po zavedení sondy, vyšetření enzymů

Žluč

- produkt exkrece jater, lehce alkalická, žlutá - bilirubin (konjug.) a biliverdin, žlučové kyseliny (soli, konjugáty) - hořká chuť
- žlučnicková šťáva - 3x - 5x hustší (sušina) než jaterní, vyšší obsah cholesterolu, žlučových kyselin a bilirubinu (za chorob. stavů - kameny, 85% cholesterolu)

Stolice

- hnědé zbarvení - produkty odbourání bilirubinu,
- zápach – produkty anaerobních bakterií, organické
sírné sloučeniny
- vyšetřuje se při krvácení v gastrointestinálním traktu
(OK) - screening karcinomu tlustého střeva, stanovení
elastázy - lipidový metabolismus

Mozkomíšní mok (likvor)

- čirá, vodnatá tekutina, kvalitativní složení obdobné krev. plazmě, kvantit. nižší obsah bílkovin, glukózy, minerálů
- získává se lumbální punkcí (sterilní odběr pro mikrobiologii), nutné alespoň 3 ml
- fyzikální, chemické a mikroskopické vyšetření - statimové x speciální

Ostatní materiál

exsudát, transudát - rozlišení Rivaltovou zkouškou (obsah proteinů, buněk), pot, sliny, sperma, plodová voda, močové a žlučové kameny - speciální testy