

Obecné zásady odběru biologického materiálu

1. Úvod

Laboratorní vyšetření nás informují o procesech probíhajících v lidském organismu a jejich změnách jak fyziologických, tak patologických. V některých případech se mohou změny laboratorních hodnot a nálezů projevit ještě před projevem choroby. Některé parametry stanovované v laboratorní medicíně se mohou měnit v řádech minut od vzniku postižení organismu.

Laboratorní vyšetření můžeme dělit na: **základní, speciální a vysoce specializovaná**. Toto dělení vychází z potřeby, ale také dostupnosti a rychlosti provádění vyšetření.

Z hlediska rychlosti provedení vyšetření v laboratoři se tato dělí na: **rutinní (do 24 hod.), statimová (do 60 min.), vyšetření z vitální indikace (do 30 min. od přijetí vzorku laboratoří)**. Vyšetření z vitální indikace musí být provedena okamžitě bez odkladu z důvodu ohrožení života pacienta.

2. Typy vzorku

Vzorky odesílané do laboratoře se dělí na několik základních skupin:

- tělní tekutiny (krev, mozkomíšní mok – likvor, sperma, amniotická, synoviální tekutina)
- exkreční vzorky (moč, stolice, sliny, pot, žaludeční, duodenální sekret, hnis, sputum)
- vzorky pevných orgánů a tkání (bioptické, nekroptické, punkce, vlasy)
- jiné vzorky (konkrementy, výtěry, stěry)

3. Proces analýzy vzorku

Proces analýzy vzorku rozdělujeme na fáze:

- 1/ preanalytickou předlaboratorní
- 2/ preanalytickou laboratorní
- 3/ analytickou
- 4/ postanalytickou

Preanalytická část se významně podílí na správnosti laboratorního vyšetření v celém procesu a zahrnuje více než 50%. Je definována jako postupy a operace od požadování analýzy po zahájení analyzování vzorku. Zahrnuje tedy přípravu nemocného na odběr, samotný odběr biologického materiálu, jeho uchování a transport do laboratoře, v laboratoři dále identifikaci, třídění, centrifugaci nebo jinou přípravu k analýze.

Vlastní analytická část probíhá v laboratoři v souladu s postupy správné laboratorní praxe. V této fázi je jakost zajištěna systémy kontroly kvality, které musí každá laboratoř provádět. Poslední část, postanalytická fáze, má interdisciplinární charakter spolupráce mezi laboratoři a indikujícím lékařem. Jedná se o interpretaci výsledků vyšetření a nálezů ve vztahu k fyziologickým mezím, výsledkům dalších vyšetření laboratorního komplementu a ke klinickému obrazu pacienta.

4. Preanalytická variabilita

Variabilita výsledků ***vlivem preanalytických biologických faktorů je mnohem vyšší než variabilita daná vlastním analytickým stanovením***. Vliv řady faktorů, které působí jen krátce (poloha těla, tělesná námaha, strava) lze minimalizovat správnou a důslednou přípravou pacienta před vyšetřením a tím snížit obtížnost interpretace výsledků.

4.1. Faktory ovlivňující preanalytickou fázi

- biologické vlivy neovlivnitelné
- biologické vlivy ovlivnitelné
- odběr materiálu
- transport materiálu
- skladování materiálu

4.1.1. Biologické vlivy neovlivnitelné

Pohlaví – rozdílné hodnoty u mužů a žen vykazují nejen pohlavní hormony, ale například i železo, hemoglobin, kreatinin a jiné.

Věk – některé parametry mají v dětském věku zcela jiné referenční rozmezí hodnot (např. alkalická fosfatáza). K výraznému posunu v rozmezí referenčních hodnot dochází během prvního měsíce života (hemoglobin a bilirubin).

Genetické faktory – u heterozygotních nositelů některých genetických defektů mohou být hladiny určitých parametrů odlišné od fyziologického rozmezí (zvýšení fenylalaninu v krvi po zátěži bílkovinou). V řadě případů se vliv genotypu může projevit náhodně po podání určitého farmaka, které organismus dotyčného jedince neumí metabolizovat kvůli deficitu příslušného enzymu.

Rasa – jsou parametry, které jsou vyšší v černošské populaci (bílkovina v séru, kreatinkináza, laktátdehydrogenáza). Koncentrace hemoglobinu v krvi je vyšší u bílé rasy než u černé.

Vlivy prostředí – faktory jako nadmořská výška, teplota vzduchu, bydliště mají rovněž vliv na některé parametry. Akutní expozice vysoké teplotě vede ke zvětšení plazmatického objemu a ke snížení glomerulární filtrace. V místech s hustou automobilovou dopravou mají lidé vyšší koncentrace karboxyhemoglobinu a olova v krvi.

Dlouhodobé cyklické změny – mezi něž patří vlivy sezónní a menstruační cyklus. Tyto změny je těžké hodnotit, závisí na definici sezóny. Expozice slunečnímu záření může způsobit fotodegradaci bilirubinu a snížení jeho sérové koncentrace až o 20%. Sluneční záření zasahuje rovněž do metabolismu kalcia.

4.1.2. Biologické vlivy ovlivnitelné (fyziologická proměnlivost)

Poloha, dlouhotrvající klid na lůžku – tělesná poloha ovlivňuje řadu parametrů: hemoglobin, hematokrit, kalium, albumin, celkovou bílkovinu, plazmatickou reninovou aktivitu, vylučování katecholaminů do moči. Vestoje je koncentrace vysokomolekulárních látek (enzymy, lipidy vázané na bílkoviny, bílkoviny) vyšší o 10 až 15% než vleže.

Fyzická zátěž, tělesná trénovanost – závisí na délce trvání a intenzitě. Po zvýšené svalové aktivitě dochází ke změnám látek energetického metabolismu (laktát, glukóza, mastné kyseliny). I mírné cvičení může zvýšit hladinu laktátu dvojnásobně. Fyzická námaha zvyšuje aktivitu kreatinkinázy a aspartátaminotransferázy.

Rytmy – řada parametrů vykazuje pravidelné změny během 24hodinových period. K těmto změnám přispívá střídání spánku a bdělého stavu, tma a světlo, aktivita a poloha organismu, příjem stravy, stres. U **cirkadiánních** rytmů parametry v rámci denní periody vykazují maximální i minimální hodnotu charakterizované amplitudou. V případě **ultradiánních** rytmů parametr vykazuje intermitentní nebo pulsní dynamiku (testosteron). Vliv na denní rytmus má cestování, při kterém dochází k překročení několika časových pásem. Změny souvisí s vlivem na hypofyzární a adrenální funkce.

Těhotenství – zahrnuje výraznou změnu biochemických pochodů. Změny parametrů mohou být dány řadou mechanismů – indukci (alkalická fosfatáza), zvýšením plazmatických transportních proteinů v plazmě (tyroxin, měď, ceruloplasmin), hemodilucí (celková bílkovina, albumin), zvýšením tělesného objemu (kreatininová clearance), relativním deficitem (železo, feritin), zvýšením proteinů akutní fáze.

Maximální hodnoty analytů během dne a jejich procentuální změny

Analyt	čas / hod	změna v %*
sérum		
Sodík	13:00	2
Draslík	11:00	19
Glukóza	18:00	59
Bilirubin	07:00	62
Glutamyltransferáza	10:00	960
TSH	02:00	206
Kortizol	07:30	1111
Aldosteron	08:00	95
krev		
Leukocyty	19:00	38
Erytrocyty	04:30	10
Lymfocyty	01:30	67
Neutrofilly	17:00	61
moč		
objem	03:00	278
Vápník	16:00	333
Kreatinin	21.08	30
Sodík	20:12	54

* procento změny vypočteno jako: $[(\text{maximální koncentrace} - \text{bazální koncentrace}) / \text{denní průměr koncentrací}] \times 100$

4.2. Dietní režim

Příjem potravy – má vliv na koncentraci některých parametrů v plazmě. Nejvíce je zvýšena koncentrace **glukózy, železa, lipidů a alkalické fosfatázy**. Testy vyžadující stav pacienta nalačno: **vazebná kapacita železa, hladina vitamínu B₁₂ a kyseliny listové, karoten, d-xylóza, laktóza, lipidový profil, hladina inzulínu, gastrin**. Prolongované hladovění může zvyšovat hladinu bilirubinu v séru (po 48 hodinách až o 240%). Pitný a dietní režim i alternativní stravovací zvyky (vegetariánství) vedou rovněž k určitému posunu laboratorních parametrů. Potravní doplňky jako vláknina, pektiny, otruby ovlivňují absorpci a následné hladiny především lipidových parametrů v plazmě. Mnohé ovoce a zelenina (banány, ananas, rajčata, avokádo) obsahují 5-hydroxytryptamin (serotonin), jenž může ovlivnit stanovení kyseliny 5-hydroxyindolové v moči. Rovněž patologické stavy jako malnutrice či obezita se mohou promítat do některých laboratorních parametrů.

4.3. Životní styl

Kouření – vliv nikotinu na vybrané parametry shrnuje tabulka.

Parametr	změna v %
----------	-----------

Albumin	3
Cholesterol	4
Glukóza	10
Triacylglyceroly	20
Kadmium, olovo	<30
CEA	<60

Příjem alkoholu – ovlivňuje především biochemické parametry podle toho, jedná-li se o akutní nebo chronický abúzus.

Parametr	násobek změny horní referenční meze
----------	-------------------------------------

akutní příjem

Aldosteron	1,5
Triacylglyceroly	1,3
Kortizol	0,5
Cholesterol	0,9
Glukóza	1,0-1,5
Testosteron	snižuje
Katecholaminy	zvyšuje

chronický příjem

Glutamyltransferáza	10,0
Aspartátaminotransferáza	2,5
Alaninaminotransferáza	1,6
Estradiol	1,6
Kortizol	1,6
Triacylglyceroly	1,3
Cholesterol	1,1
HDL-cholesterol	1,2
Železo	1,8

4.4. Užívání léků a drog

Nelze zobecnit vliv léků a drog na laboratorní testy. Podávané léky mají vliv na biologické procesy in vivo (indukce nebo inhibice enzymů, zvýšení transportních proteinů, cytotoxicita), ale rovněž vyvolávají interference in vitro (zkřížená reaktivita při imunochemických stanoveních). Je nutné upozornit laboratoř nebo s ní konzultovat nejasný nález, který může souviset s medikací pacienta. Interferencí daného farmaka může být celá řada (orální kontracepce), naopak každý parametr může být ovlivněn celou řadou farmak s různými efekty. Nelze podat komplexní přehled interakcí, k tomu slouží rozsáhlé databáze a kompendia. Pro ilustraci jsou uvedeny některé.

Parametr	vliv	farmaka
Glukóza	zvyšují	estery kys. nikotinové, phenytoin, prednisolon, propranol, thiazidy, chlorpromazin, indomethacin, levadopa
	snižují	cimetidin, klofibrát, disopyramin, paracetamol, pentamidin

Cholesterol	zvyšují	chlorthalidon, hydrochlorthiazid, orální kontracepce (ne progestiny)
	snižují	vitamin C (dlouhodobý příjem)
Kreatinin	zvyšují	amoxapin, kyselina salicylová, cimetidin, cotrimoxazol, cyklosporin, kys. mefenamová, methoxyfluran, kys. thienilová trimethoprim-sulfamethoxazol
Vápník	zvyšují	tamoxifen
	snižují	lithium, propranolol
Bilirubin	zvyšují	acetaminofen, androgeny, aspirin, azathioprin, karbamazepin, erytromycin, halotan, heroin, isoniazid, ketokonazol, methotrexat, paracetamol, penicilamin, phenytoin, ranitidin
AST, ALT	zvyšují	acetaminofen, amiodaron, kys. salicylová, karbamazepin, disopyramin, oxacilin, oxyphenisatin, papaverin, paracetamol, penicilamin, perhexilin, fenylbutazon, fenytoin, ranitidin, rifampin, streptokináza, trimethoprim-sulfamethoxazol, kys. valproová
GGT	zvyšují	karbamazepin, erytromycin, orální kontracepce (ne progestiny), oxacilin, fenytoin
	snižují	klofibrát
ALP	zvyšují	allopurinol, amsacrin, karbamazepin, cotrimoxazol, cyklofosfamid, disopyramid, erytromycin, isoniazid, ketokonazol, merkaptopurin, methotrexat, methoxyfluran, oxacilin, papaverin, penicilamin, fenobarbital, fenylbutazon, primidon, ranitidin, sulfasalazin, kys. valproová
	snižují	klofibrát, orální kontracepce

Infuze – nedostatečně propláchnutý žilní katétr použitý k odběru krve může vést ke kontaminaci želatinou (ovlivnění stanovení proteinů), dextranem, glukózou, elektrolyty (výrazné u draslíku), lipidy a dalšími farmaky.

Perorální antikoncepce – obsahují různé kombinace estrogenů a progestinů, nebo samotné progestiny. Tyto rozšířené preparáty mohou ovlivňovat různé parametry. Estrogenová složka stimuluje hepatocytární proteosyntézu vedoucí mimo jiné ke zvýšení plazmatického fibrinogenu. Právě hormonální efekty na koagulační aparát mohou u predisponovaných uživatelék způsobovat vážné komplikace.

Efekt orální kontracepce na vybrané parametry

Analyt	násobek změny horní referenční meze
Apolipoprotein A1	1,1
Apolipoprotein B	1,2
Cholesterol	1,1

DHEA-S	0,7
LH	0,1-0,2
Protein S	0,75
SHBG	2,5-3,0
Transkortin	2,0
Triacylglyceroly	1,5
Feritin	1,6
FSH	0,7
Železo	1,2

4.5. Zásadní medicínské vlivy a stavy

Jsou jimi: horečka, šok a trauma, transfuze, vyšetřovací technika, intramuskulární injekce, chirurgický zákrok.

Horečka, ale i šok a trauma mají podstatný vliv na celou řadu hormonálních parametrů. Po transfuzi krve stoupá koncentrace bílkovin a aktivita laktátdehydrogenázy.

Zvýšení aktivity enzymů po chirurgickém zákroku je výrazné u kreatinkinázy (76%) a aspartátaminotransferázy (50%), stoupá rovněž sedimentace i proteiny akutní fáze.

Palpace prostaty před odběrem krve vede ke zvýšení kyselé fosfatázy a dalších prostatických parametrů, podobný efekt může mít delší jízda na kole.

Intramuskulární injekce může vést ke zvýšení kreatinkinázy a myoglobinu v plazmě.