

Pokyny pre manipuláciu so vzorkou po odbere

Identifikčné číslo: PKNKBBA02c012009

Dátum vydania: 1.01. 2009

Schválil: Doc. Ing. Pavel Blažíček, PhD

Dňa: 3.01.2011

Vypracoval: Mgr. Katarína Dudová

Dátum poslednej revízie: 3.01.2011

Podpis:

Vzorky krvi, moču a stolice sú potenciálne infekčným materiálom a podľa toho je potrebné s nimi aj narábať. Ich prevoz sa riadi zákonom o ochrane životného prostredia a súvisiacimi predpismi, viď dokument [PSTKBBA 30c012009]. Pri manipulácii s nimi je potrebné dbať na to, aby nedošlo ku kontaminácii poranenej pokožky, očí, slizníc nosa a ústnej dutiny. Odporúča sa používanie ochranných prostriedkov (rukavice prípadne okuliare). Ich nepoužívanie pri manipulácii s biologickým materiálom je na vlastnú zodpovednosť každého pracovníka. Tí sú informovaní o možných závažných následkoch takéhoto konania.

Po správnom odobratí krvi pacientovi je dôležité, aby sa vzorka neznehodnotila nevhodným zaobchádzaním, preto je potrebné dodržať nasledujúce pokyny:

1. Pred vloženíím vzoriek do plastového vrečka skontrolovať:

- **označenie skúmavky:** meno a priezvisko pacienta, rok narodenia,
- **odobraté množstvo:** množstvo musí byť buď presné, (KO, koagulačné parametre) alebo dostatočné na vykonanie všetkých požadovaných vyšetrení. Optimálne je u dospelých odoberať 9 - 10 ml krvi, u detí 5 ml na vyšetrenia realizované zo séra.
- **celistvosť a uzavretie skúmaviek:** skúmavky nesmú byť prasknuté alebo zle uzatvorené. Môže dôjsť k vytečeniu vzorky a tým nielen k redukcii požadovaného množstva materiálu, ale aj k znečisteniu žiadaniek, ktoré sú pre laboratórium právny dokladom. Vždy je potrebné mať na pamäti, že každá vzorka predstavuje potenciálne infekčný materiál!!!
- **správne vyplnenie žiadaniek:** údaje na žiadankách musia súhlasiť s údajmi na skúmavkách. Nesmie chýbať dátum odberu.

2. Po odbere je potrebné vzorku do laboratória dopraviť čo najskôr, aby sa mohlo včas oddeliť sérum od krviniek, čím sa vzorka stabilizuje. Rýchly transport a krátky čas skladovania vzorky pred spracovaním sú zárukou správnosti získaného laboratórneho výsledku. Čas od odberu po scentrifugovanie vzorky by nemal presiahnuť 3 hodiny. Ak sa plánuje transport vzorky na dlhšiu vzdialenosť, nie je vhodné transportovať celú krv. Odporúča sa posielat sérum resp. plazmu.

3. Kým sa vzorka krvi nedopraví do laboratória a nescentrifuguje, je potrebné uchovávať ju pri 20 – 25 °C. Nechladíť! Celá krv by nemala byť skladovaná v chladničke. Všeobecne sa neodporúča skladovať plnú krv. Ak sa predpokladá, že vzorka nebude zavčasu dopravená do laboratória, je potrebné zabezpečiť aspoň jej scentrifugovanie.. Sérum/plazma sa môže skladovať pri 2 – 8 °C alebo zmrazené pri -20 °C, obvyčajne postačuje uchovanie pri 2 – 8 °C. V prípade, že sa nedodržia spomínané odporúčania a časové intervaly (napr. celá odobratá krv sa dopraví do laboratória až nasledujúci deň po odbere, pričom bola skladovaná pri 2 – 8 °C), musia sa jednotlivé požadované parametre prehodnotiť podľa stability za daných podmienok [ZOZKBBA 15c012009] a v prípade potreby vylúčiť z procesu analýzy. **V LIS laboratória sa pri zadávaní požiadaviek zo žiadanky zaznamenávajú údaje o čase príjmu vzorky do laboratória!**

4. Vzorky sa musia vždy uchovávať v uzavretých nádobách (skúmavkách), aby sa zabránilo vyparovaniu. V opačnom prípade dochádza vplyvom vyparovania k zvyšovaniu koncentrácie resp. aktivity neprchavých analytov vo vzorke. Z rovnakého dôvodu je potrebné pri manipulácii so vzorkami redukovať ich možný kontakt so vzduchom na čo najkratšiu možnú dobu. Je potrebné si uvedomiť, že aj v chladničkách môže dochádzať k vyparovaniu a zároveň ku kondenzácii na

Pokyny pre manipuláciu so vzorkou po odbere

Identifikačné číslo: PKNKBBA02c012009

Dátum vydania: 1.01. 2009

Schválil: Doc. Ing. Pavel Blažíček, PhD

Dňa: 3.01.2011

Vypracoval: Mgr. Katarína Dudová

Dátum poslednej revízie: 3.01.2011

Podpis:

chladiacom telesa a že nesprávne manipulovanie s chladničkou (dlho otvorené dvere, nepravidelné rozmrazovanie) tiež ovplyvňuje kvalitu skladovaných sér [PKNKBBA 25c012009].

5. So vzorkami narábame tak, aby sme sa vyhli traseniu a tým možnosti spôsobiť mechanickú hemolýzu. Odporúča sa skúmavky so vzorkami uchovávať a transportovať vo vertikálnej polohe.

6. Vzorky krvi sa nesmú vystavovať vplyvu týchto faktorov:

- **vysoká teplota:** (nad 37°C) napr. okolie vykurovacích telies
- **nízka teplota:** (pod 1°C) napr. chladnička, mraznička, vonkajšie prostredie
- **priame slnečné žiarenie:** napr. pri okne
- **silné magnetické resp. elektromagnetické polia:** napr. elektromotory, transformátory, vysielачky, magnety, silnoprúdové vedenia, NMR prístroje, radary
- **ultrafialové žiarenie:** napr. germicídne žiariče, UV iluminátory
- **ionizujúce žiarenie, resp. rádioaktivita:** napr. RTG prístroje, CO -bomby, rádioaktívne izotopy, televízna obrazovka, monitory počítačov
- **mikrovlnné žiarenie:** napr. mikrovlnné rúry
- **ultrazvuk:** napr. sonikátory, ultrazvukové čističky

Inak hrozí poškodenie vzorky, a tým aj znehodnotenie výsledkov stanovení jednotlivých analytov.

7. Krv sa musí nechať dostatočne dlhú dobu zrážať, optimálne aspoň 30 minút. Ak sa scentrifuguje predčasne, môže dôjsť k hemolýze a nie je dostatočne vyzrážaný fibrín, ktorý sa môže vyzrážať dodatočne v oddelenom sére a spôsobiť upchatie pipetorov, hadičiek v analyzátore resp. zlé nasatie séra. Centrifuguje sa pri 3000 ot./min. 10 minút. Vzorky na koagulačné vyšetrenie sa scentrifugujú pri otáčkach 3000 ot./min, aby sa získala plazma bez trombocytov.

8. Vzorky sa prepravujú v termoizolačných boxoch s kontrolovanou teplotou, ktoré sú na tento účel určené.

9. Osoba odosielajúca a prepravujúca vzorky sa musí uistiť, že sú vzorky pripravené tak, aby prišli v neporušenom stave, pričom nesmie byť ohrozené životné prostredie, ľudia ani zvieratá. Pred transportom, počas neho a po transporte vzoriek je potrebné dbať na to, aby nedošlo k strate prepravovaného biologického materiálu.

10. Krv s EDTA na vyšetrenie KO sa má analyzovať do 4 max. 6 hodín po odbere. Pred analýzou sa vzorky môžu uchovávať pri izbovej teplote. Skladovanie na 24 hodín sa neodporúča.

11. Citrátová krv na vyšetrenie koagulačných parametrov sa musí analyzovať do 3 hodín od odberu. Krv sa dovtedy uchováva a transportuje pri izbovej teplote (20 – 25 °C), vzorky sa **nesmú chladiť!** Chlad aktivuje faktor VII., XI., XII., čo spôsobuje falošné zníženie vyšetovaných časov. Ak sa testy plánujú urobiť neskôr ako je odporúčaná doba spracovania (3 hod.), je potrebné plazmu bez trombocytov oddeliť od buniek a uchovať zmrazenú pri – 20 °C. Takto uchovaná plazma je stabilná 4 týždne. Pri vyšetrení zmrazenej plazmy sa vzorky musia rozpustiť rýchlo vo vodnom kúpeli pri 37 °C a následne dôkladne premiešať.

12. Moč: Semikvantitatívnu analýzu testovacími prúžkami sa doporučuje urobiť ihneď po odbere. Možno ju urobiť až do 24 hodín po odbere, ak je moč uchovaný v chlade pri 2 – 8 °C. Nepoužívajú sa žiadne stabilizačné prísady.

Pokyny pre manipuláciu so vzorkou po odbere

Identifikčné číslo: PKNKBBA02c012009

Dátum vydania: 1.01. 2009

Schválil: Doc. Ing. Pavel Blažíček, PhD

Dňa: 3.01.2011

Vypracoval: Mgr. Katarína Dudová

Dátum poslednej revízie: 3.01.2011

Podpis:

Morfologickú analýzu močového sedimentu je potrebné urobiť optimálne do 1 hodiny, max. však do 2 hodín po odbere, pričom sa moč uchováva pri laboratórnej teplote. V prípade, že by sa tento interval mal prekročiť, má sa vzorka skladovať pri 2 – 8 °C. Avšak čím je dlhší čas od odberu po vlastnú analýzu vzorky, tým viac dochádza k rozpadu elementov a zvlášť ak je pH moču alkalické a je nízka osmolalita. Z chladeného moču môžu vypadávať kryštály urátov a fosfátov, v takom prípade je potrebné urobiť nový odber a analyzovať sediment do 1 hodiny.

Pre mikrobiologické vyšetrenie je potrebné vzorku spracovať do 2 hodín, ak nie, môže sa uchovávať pri teplote 4 °C 24 hodín.

Pre chemickú analýzu väčšiny nami vyšetrovaných analytov zo zbieraného alebo jednorázového moču nie je potrebná úprava moču stabilizačnými činidlami (s výnimkou zbieraného moču na vyšetrenie katecholamínov a 5HIOK). Moč sa musí dopraviť do laboratória čo najskôr po odbere. Kým sa tak nestane, môže sa skladovať pri izbovej teplote. Stanovované analyty sú za takýchto podmienok stabilné v moči aspoň 1 deň. Pre dlhšie skladovanie sa doporučuje moč uchovávať pri 4 – 6 °C s výnimkou stanovenia kys. močovej, kedy sa moč nesmie chladiť!

VPLYV HEMOLÝZY NA VYŠETROVANÉ ANALYTY

Keďže hemolýza vzorky výrazne ovplyvňuje resp. znemožňuje analýzu niektorých parametrov je vhodné na tomto mieste spomenúť najčastejšie situácie kedy dochádza k hemolýze in vitro.

Podľa príčiny delíme hemolýzu na:

- **mechanickú** - príliš prudké narábanie so vzorkou, rýchle nasávanie pri odbere alebo vystrekovanie zo striekačky, centrifugácia pri vysokých otáčkach, dopravovanie celej krvi na veľkú vzdialenosť
- **osmotickú** - mokrá skúmavka
- **tepelnú** - krv vystavená mrazu alebo naopak vysokej teplote
- **chemickú** - dezinfekčný prostriedok, ktorý rozruší membránu erytrocytov

Hemolýza ovplyvňuje výsledky najmä v nasledujúcich súvislostiach:

- Obsah erytrocytov sa uvoľňuje do okolia, čím dochádza v sére ku zvýšeniu koncentrácie intracelulárne lokalizovaných komponentov, najmä LD, kálium, AST. Vplyv na ostatné parametre je zanedbateľný, ak hemolýza nie je extrémna t.j. koncentrácia HGB v sére nad 0,3 g/dl.
- Červená farba hemoglobínu(silná hemolýza séra) bráni pri fotometrickom stanovení väčšiny analytov.
- Hemoglobín pôsobí ako tlmivý roztok a mení tak pH činidla, čím ovplyvňuje priebeh celej reakcie.
- Hemoglobín reaguje s činidlom a rozkladá ho, čím falošne znižuje výsledok pri meraní bilirubínu. Veľkosť ovplyvnenia rastie so stupňom hemolýzy a s koncentráciou bilirubínu v sére.

Všetky vzorky s hemolyzovaným sérom sú riadne zaznačené v LIS príslušného laboratória a komentár o hemolýze séra sa objaví vždy aj na výťažku vyšetrení daného pacienta [PKNKBBA 23c012009]

**Pokyny pre manipuláciu so vzorkou po odbere**

Identifikačné číslo: PKNKBBA02c012009

Dátum vydania: 1.01. 2009

Vypracoval: Mgr. Katarína Dudová

Dátum poslednej revízie: 3.01.2011

Schválil: Doc. Ing. Pavel Blažíček, PhD

Dňa: 3.01.2011

Podpis:

Vysvetlivky skratiek:

KO - krvný obraz**NMR** - nukleárna magnetická rezonancia**EDTA** - kyselina etyléndiaminotetraoctová**LDH** - laktát dehydrogenáza**ACP** - kyslá fosfatáza**AST** - aspartátaminotransferáza**HGB** - hemoglobín