


Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémií	117_LP_22_01

Úvod

Vážené kolegyně, vážení kolegové, vážení pacienti,

dovolujeme si Vám předložit tuto laboratorní příručku, která má za úkol komplexně informovat o činnosti Laboratoře anémií. Je určena všem spolupracujícím poskytovatelům zdravotních služeb a poskytuje popis všech dostupných vyšetření, která naše laboratoř poskytuje.

Rozsah vyšetření prováděných v naší laboratoři je průběžně aktualizován, v souladu s rozvojem medicínských znalostí spolu s požadavky na způsob odběru biologického materiálu.


Naší snahou je poskytovat maximálně kvalitní, co nejvíce dostupné a komplexní laboratorní služby a tím přispět k vysoké úrovni péče poskytované pacientům. Věříme, že i tato příručka může být přínosem v našem úsilí.

Prosíme, abyste věnovali zvláštní pozornost kapitolám, které obsahují zásady pro odběry, identifikaci a příjem vzorků a vydávání nálezů. Tato pravidla byla vypracována v souladu s platnou legislativou, doporučeními odborných společností, akreditačními normami a z nich vyplývajícími standardy. Pravidla jsou závazná pro všechny pracovníky laboratoře.

Laboratorní příručka je k dispozici na webových stránkách ÚHKT www.uhkt.cz, kde je pravidelně aktualizována.

Doufáme, že tato příručka přispěje ke zkvalitnění naší vzájemné spolupráce.

Kolektiv Laboratoře anémií

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémií	117_LP_22_01

1. INFORMACE O LABORATOŘI

Identifikace laboratoře a důležité údaje

Název laboratoře:	Laboratoř anémií
Adresa laboratoře:	ÚHKT, U Nemocnice 2094/1, 128 00 Praha 2
Vedoucí laboratoře:	prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
Zástupce ved. laboratoře:	MUDr. Dana Mikulenková
Úsekový laborant:	Dana Habadová
Manažer kvality:	Hana Feixová
Telefonní spojení:	224 962 857, 221 977 257
Fax:	224 962 857
E-mail:	Jaroslav.Cermak@uhkt.cz
Webová stránka:	www.uhkt.cz
Provozní doba:	po – pá 7:00 –15:30 hodin

Základní informace o laboratoři

Laboratoř anémií je součástí Klinického úseku ÚHKT. Je začleněna do systému řízení kvality Komplementu laboratoří ÚHKT (zdravotnická laboratoř č. 8081, kontinuálně obhajující nezávislé a nestranné posouzení odborné způsobilosti dle normy ČSN EN ISO 15189, jejíž aplikaci ověřuje Český institut pro akreditaci). Vyšetřovací metody v rozsahu akreditace jsou definovány přílohou Osvědčení o akreditaci v aktuální verzi. Tyto metody mají přiznaný flexibilní rozsah akreditace o nichž je zadavatel informován prostřednictvím webových stránek (www.uhkt.cz). Zde je k dispozici aktuální Osvědčení o akreditaci, Seznam činností prováděných v rámci flexibilního rozsahu a dále v příloze Osvědčení o akreditaci je uveden stupeň volnosti každého vyšetření, v samostatném oddílu i upřesnění rozsahu akreditace.


K zajištění trvalé dostupnosti a integrity uchovaných vzorků a záznamů pacientů v případě uzavření, akvizici, nebo fúze laboratoře bude uzavřena dohoda s partnerskou společností, která převezme veškeré závazky související s uchováním vzorků biologického materiálu a papírové či elektronické dokumentace.

Zaměření laboratoře

Laboratoř anémií se věnuje diagnostice vrozených a některých získaných poruch červené krevní řady (dědičná sférocytóza, deficit pyruvát kinázy, deficit G-6-PD, alfa a beta thalasémie a vzácnější korpuskulární hemolytické anémie, paroxysmální noční hemoglobinurie). Ve spolupráci s laboratořemi molekulární genetiky University Palackého v Olomouci jsou zkoumány vzácné hemoglobinopatie (byly popsány Hb Lepore, Hb Olomouc, Hb Nottingham aj.), ve spolupráci s oddělením imunologie a molekulární genetiky Nemocnice Na Homolce jsou vyšetřovány mutace PIG-A genu.

V rámci výzkumného záměru MZOUHKT2005 „Význam molekulárně biologických vyšetření pro objasnění patogeneze a pro diagnostiku poruch krvetvorby a využití krvetvorné buňky v léčbě onemocnění krvetvorby

Dokument zobrazený na [Portále SMK](#) je aktuálně platnou verzí, po vytištění slouží pouze pro informativní účely.

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

a jiných tkání “ spolupracuje laboratoř na detekci genových přestaveb u nemocných s MDS. Dále se podílí na řešení výzkumného záměru IGA MZd NS9634-4/2008 „Stanovení SNP a DNA methylačního profilu u pacientů s myelodysplastickým syndromem pomocí mikročipové technologie“.

2. ORGANIZACE LABORATOŘE, VNITŘNÍ ČLENĚNÍ

Počet pracovníků a jejich odborná způsobilost

Vedoucí lékař laboratoře má specializační nadstavbovou atestaci z oboru Hematologie a Transfuzní lékařství, jež ho opravňuje k výkonu této funkce. Dále v laboratoři pracuje vysokoškolák – nelékař a laboranti.

Přístup na pracoviště

Vstup do Laboratoře anémii je povolen pouze osobám pracujícím v této laboratoři a jejich nadřízeným. Jiné osoby (servisní technici) mohou na oddělení vstoupit pouze se souhlasem zaměstnanců laboratoře za dodržení podmínek řízeného vstupu.

3. SPEKTRUM NABÍZENÝCH SLUŽEB

Rutinní vyšetření

Laboratoř provádí základní vyšetření u vrozených a získaných korpuskulárních anémii (membránové defekty, erytrocytární enzymopatie, hemoglobinopatie).

Podrobnější informace o provádění a vyhodnocování testů jsou uvedeny v kapitole „[Abecední seznam laboratorních vyšetření](#)“.

Statimová vyšetření

Laboratoř anémii neprovádí statimová vyšetření.


4. PŘÍRUČKA PRO ODBĚRY PRIMÁRNÍCH VZORKŮ

Příručka pro odběry primárních vzorků je součástí této LP, je trvale k dispozici v elektronické podobě (www.uhkt.cz) nebo na portálu SMK. Rozsah vyšetření prováděných v laboratoři je průběžně aktualizován v souladu s rozvojem medicínských znalostí a je formou nabídky laboratorních vyšetření dáván na vědomí klinickým partnerům (lůžkovým i ambulantním zařízením) spolu s požadavky na způsob odběru biologického materiálu.

Základní informace

Základní informace o odběrech primárních vzorků na jednotlivá vyšetření (viz kapitola „[Abecední seznam laboratorních vyšetření](#)“).

Laboratoř dodržuje odborná doporučení a akreditační standardy, čímž je zajištěno dodržování závazných režimů pro provádění jednotlivých vyšetření.

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémíí	117_LP_22_01

Požadavkové listy (žádanky)

Veškeré požadavky na prováděná vyšetření jsou stejně tak jako výsledky zpracovány pomocí laboratorního informačního systému (dále jen LIS), který je součástí nemocničního systému (NIS).

Materiál dodávaný do laboratoře musí být správně označen a musí mít správně vyplněnou žádanku. U cizinců je nutné uvedení čísla pojistky a datum narození, u azylantů též číslo povolení k pobytu.

Základní identifikační znaky požadované na žádance

- příjmení, jméno pacienta
- rodné číslo pacienta (číslo pojištěnce) /je-li relevantní datum narození
- kód pojišťovny pacienta
- základní a event. další diagnózy pacienta
- datum a čas odběru
- pohlaví pacienta
- identifikace zadavatele – název zařízení, oddělení, jméno lékaře, IČP, IČZ, odbornost
- kontakt na zadavatele – adresa, telefon – pokud není na razítku
- vypsaná nebo zaškrtnutá požadovaná vyšetření

Nepovinné, fakultativní údaje:

Na žádance lze uvést doplňující klinické informace týkající se pacienta a vyšetření (pro interpretační účely – klinická interpretace nálezů však není povinností laboratoře). Pro některá vyšetření nelze nálezu uzavřít bez určitých klinických dat, u těchto vyšetření je uvedení některých údajů povinné (viz kapitola „[Abecední seznam laboratorních vyšetření](#)“).


Po přezkoumání údajů na žádance, na primárním vzorku a po vizuální kontrole jeho kvality je vzorek převzat a zaevidován pracovníkem **laboratoře**. Datum a čas přijetí vzorku do laboratoře jsou automaticky evidovány v LIS, přijetím elektronické žádanky (či po jejím vytvoření přímo v laboratoři – při konziliárním vyšetření).

Požadavky na odběr primárního vzorku jsou koncipovány tak, aby odebírané množství materiálu bylo co nejmenší a aby nebyly zbytečně odebírány násobně tytéž druhy vzorků. Koncepce žádanky zajišťuje, aby administrativní úkon při jejím vyplňování byl co nejjednodušší.

Typy žádanek pro jednotlivá vyšetření jsou na vyžádání k dispozici v laboratoři nebo jsou publikovány na www.uhkt.cz. Jinou než vlastní žádanku laboratoře přijme laboratoř ke zpracování tehdy, splňuje-li žádanka náležitosti zmiňované v [Laboratorní příručce](#) a jsou-li na ní jednoznačně identifikovatelná jednotlivá vyšetření, která má laboratoř provést.

Samoplátci

Laboratoř poskytuje své služby i samoplátcům. Při zaslání vzorku na vyšetření samoplátce je nutno na žádanku uvést adresu, na kterou se provede fakturace. Na tuto adresu budou zaslány výsledky vyšetření. Cena vyšetření pro samoplátce je dána dle bodové hodnoty vyšetření v platném Seznamu výkonů. Aktuální ceník poskytne laboratoř na požádání. Následně bude provedena platba v pokladně ÚHKT **v jejích úředních hodinách.**

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

Výsledky jsou zasílány doporučenou poštou nebo se může pacient dostavit přímo do laboratoře, kde bude provedena jeho identifikace (občanský průkaz, cestovní pas či jiný identifikačně platný dokument) a samoplátce obdrží výsledek testu.

Informovaný souhlas/nesouhlas pacienta

Veškerá vyšetření jsou prováděna s informovaným souhlasem pacienta (zajišťuje klinický zadavatel). Pacient je informován o plánovaném diagnostickém nebo léčebném postupu formou informovaného souhlasu (IS). Informovaným souhlasem/nesouhlasem projevuje pacient vůli přijmout nebo nepřijmout navržený léčebný nebo diagnostický výkon (postup) na základě informace poskytnuté lékařem, zaznamenaný předepsanou formou.

Způsob odebrání informovaného souhlasu, provádění vyšetřovacích a léčebných výkonů bez souhlasu pacienta a formy odebrání informovaného souhlasu upravuje [SŘ Informovaný souhlas pacienta v ÚHKT](#). Nakládání se vzorkem po vyšetření je třeba na žadance vyplnit dle aktuálního informovaného souhlasu pacienta.

Pokud pacient nesouhlasí s uchováním vzorku, případně jeho dalším využitím pro vědecké účely, je třeba na žadance zaškrtnout příslušnou kolonku.

Zadávací lékař je zodpovědný za přenos správné informace o nakládání se vzorkem pacienta v souladu s informovaným souhlasem.

Odvolání informovaného souhlasu s uchováním vzorku

Zadavatel zodpovídá za předání informací laboratoři v případě, že dojde k odvolání informovaného souhlasu pacienta v souvislosti s uchováním vzorku. Požadavky na dodatečná a opakovaná vyšetření

Je-li nutné doplnit některá vyšetření z již dříve dodaného vzorku, je možné uplatnit požadavek na dodatečné vyšetření ústně nebo telefonicky.


Ze vzorků dodaných do laboratoře lze dodatečně doobjednat lékařem vyšetření na základě dodržení těchto pravidel:

- dodatečná vyšetření požadovaná akutně budou provedena neprodleně po telefonickém doobjednání, ostatní vyšetření budou provedena v rámci rutinního provozu. S ohledem na pravidla stanovená zdravotními pojišťovnami musí být do laboratoře dodatečně doručena též žádanka s přioobjednaným vyšetřením. **Výsledky dodatečných vyšetření budou vydány až po zaslání dodatečné žadanky.**
- dodatečná vyšetření lze u některých analytů provést s určitým omezením, které je dáno stabilitou analytu v biologickém materiálu.

Stabilita analytů v odebraném biologickém materiálu pro jednotlivé analýzy je uvedena v kapitole „[Abecední seznam laboratorních vyšetření](#)“.

Používaný odběrový systém

U jednotlivých analytů jsou uvedeny vhodné druhy odběrového materiálu (médi) a případné speciální požadavky na odběr. Předepsaný druh odběrového i biologického materiálu je třeba při odběrech

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

respektovat. Pro odběry jsou používány zkumavky sterilní, nerozbitné při pádu i centrifugaci, dokonale průhledné a se štítkem pro identifikaci.

Odběry periferní krve v uzavřeném systému mají řadu výhod:

Zkumavky jsou spolehlivě uzavřené s přesně definovaným elektronicky testovaným vakuem postačujícím k naplnění právě jen uvedeným objemem krve.

V odběrovém systému jsou využity progresivní technologie umožňující téměř okamžité získání séra pro laboratorní vyšetření (akcelerátory hemokoagulace, separační gely), zajišťující dlouhodobou stabilitu vzorku a snadný transport.

Všechna potřebná, vysoce kvalitní chemická aditiva jsou ve zkumavkách přesně nadávkována, takže je zachován jejich poměr k nabranému objemu krve, který odpovídá nastavenému vakuu. Z tohoto důvodu je bezpodmínečně nutné odebírat pouze takové množství krve, které je pro danou zkumavku definované (a vyznačené ryskou).

Vakuovaný systém nabízí kompletní sortiment vakuovaných odběrových zkumavek v objemových velikostech 1–10 ml pro všechna rutinní laboratorní vyšetření z plné krve, séra a plazmy.

Všechny součásti systému přicházející do styku s krví jsou určeny k jednorázovému použití a s výjimkou jehel jsou vyrobeny z velmi snadno zlikvidovatelných (spalováním nebo drcením), zdravotně i ekologicky nezávadných plastových hmot.

Systém je kompatibilní se všemi vakuovanými odběrovými systémy a pomocí adaptéru i s veškerou „klasickou“ odběrovou a infuzní technikou typu Luer.

5. PŘÍPRAVA NEMOCNÉHO PŘED VYŠETŘENÍM, ODBĚR VZORKU

Příprava nemocného na odběr

Pokud není uvedeno jinak, je vhodné provést odběr žilní krve ráno (7–10 hod.) nalačno. Pacient by neměl 12 hodin před odběrem jíst, pít alkohol, kouřit; den před odběrem by měl vynechat tučná jídla. Ráno před odběrem by měl vypít 250 ml vody nebo neslazeného čaje.

Pro určitá speciální vyšetření je nutno dodržet speciální přípravu, která je uvedena u jednotlivých vyšetření (viz kapitola „[Abecední seznam laboratorních vyšetření](#)“).

Hlavní chyby při odběrech krve

Postupně jsou zdůrazněny hlavní chyby při odběrech žilní krve:

- chyby při přípravě nemocného
- chyby způsobené nesprávným použitím škrtila při odběru
- chyby vedoucí k hemolýze vzorku
- chyby při adjustaci, skladování a transportu
- chyby při identifikaci pacientského vzorku

Chyby při přípravě nemocného

- pacient nebyl nalačno, požití tuky způsobí přítomnost chylomikér v séru nebo plazmě, zvýší se koncentrace glukózy
- v době odběru anebo těsně před odběrem dostal pacient infúzi
- pacient nevysadil před určitým odběrem konkrétní léky, které mohou zkreslit výsledek
- odběr nebyl proveden ráno nebo byl proveden po mimořádné fyzické zátěži (včetně nočních směn)
- delší cestování před odběrem se může negativně projevit např. u kardiaků
- je zvolena nevhodná doba odběru: během dne řada biochemických a hematologických hodnot kolísá, odběry mimo ráno ordinujeme proto jen výjimečně, kde mimořádný výsledek může ovlivnit naléhavé diagnostické rozhodování
- pokud příliš úzkostlivý pacient dlouho před odběrem ani nepil, jsou výsledky ovlivněny dehydrací

Chyby způsobené nesprávným použitím škrtdla při odběru

Dlouhodobé stažení paže nebo nadměrné cvičení ("pumpování") se zataženou paží před odběrem vede ke změnám poměrů tělesných tekutin v zatažené paži; ovlivněny jsou např. koncentrace draslíku nebo proteinů.

Chyby vedoucí k hemolýze vzorku

Hemolýza vadí většině biochemických i hematologických vyšetření zejména proto, že řada látek může být vyplavena z erytrocytů do séra nebo plazmy nebo tím, že zbarvení vzorku může interferovat s vyšetřovacím postupem. Hemolýzu v našich podmínkách teoreticky může působit:

- znečištění jehly nebo pokožky stopami ještě tekutého dezinfekčního roztoku
- použití příliš úzké jehly, kterou se pak krev násilně nasává
- prudké třepání krve ve zkumavce (padá v úvahu i při nešetrném transportu krve ihned po odběru)
- prodloužení doby mezi odběrem a dodáním do laboratoře
- použití nesprávné koncentrace protisrážlivého činidla
- vstříkávání krve do zkumavky přes jehlu

Chyby při skladování a transportu

- použily se nevhodné zkumavky
- použilo se nesprávné protisrážlivé činidlo nebo jeho nesprávný poměr k plné krvi
- zkumavky s materiálem nebyly dostatečně označeny
- zkumavky s materiálem byly potřísněny krví
- uplynula dlouhá doba mezi odběrem a oddělením krevního koláče nebo erytrocytů od séra či plazmy (řada látek včetně enzymů přešla z krvinek do séra nebo do plazmy. Rozpad trombocytů vede k uvolnění destičkových komponent – ACP a další)
- krev byla vystavena teplu, přímému slunečnímu světlu, nebo mrazu

Vliv infuzní terapie – odběr nejdříve hodinu po infuzi

Kontaminace infuzí – proto se obecně nedoporučuje odběr krve z katétru, který je určen pro podávání nitrožilní výživy. Bezpečným není odběr pod stejným turniketem ani v případě zdánlivě dostatečné vzdálenosti místa odběru a nitrožilního katétru.

Příčinou kontaminace může být nejen zředění vzorku aplikovanou infuzí (v případě, že se tento vzorek odběru použije), ale také zředění vzorku heparinovou zátkou katétru pro opakované odběry nebo přítomnost anastomóz v žilním řečišti. V případě použití heparinové zátky je i po jeho odstranění ovlivněno vyšetření koagulace. Kontaminace infuzí se dále projeví atypickým, často několikanásobným zvýšením těchto analytů, které byly v infúzi ve vysoké koncentraci. Pro prevenci těchto obtíží je jediným bezpečným způsobem odběr žilní krve z opačné končetiny, než je zaveden katétre infúze (zejména při koagulačním vyšetření).

Odběry z centrálních katetrů a kanyl

První odebraná zkumavka se do laboratoře neposílá (zlikviduje se).

Pokyny k odběru krve vakuovým systémem

Bezpečnostní aspekty

- každý vzorek krve je nutné považovat za potenciálně infekční
- je nutné zabránit zbytečným manipulacím s krví, které by mohly vést ke kontaminaci pokožky odebírající osoby, veškerých zařízení používaných při odběru nebo ke vzniku infekčního aerosolu
- je nutné zajistit dostupnost lékaře při předpokládaných komplikacích při odběru
- u nemocných s poruchami vědomí nebo u malých dětí je nutné k zabránění případného poranění očekávat nenadálé pohyby nebo reakce na vpich komplikace se musí ohlásit
- veškeré manipulace s odběrovými jehlami se musí provádět s maximální opatrností
- je zakázáno provádět odběry materiálu v místnostech s možným zdrojem infekčního aerosolu (v místnostech s centrifugami, dávkovači, vývěvami apod.)

Prevence hematomu zahrnuje zejména

- punkci pouze horní žilní stěny s jistotou, že jehla jen touto stěnou úplně pronikla
- včasné odstranění turniketu (zejména před odstraněním jehly ze žíly)
- používání, pokud možno jen velkých povrchových žil
- aplikace přiměřeně malého tlaku na místo vpichu při ošetření rány po odběru

Pracovní postup žilního odběru krve

Příprava materiálu a příslušné dokumentace, zejména s ohledem na prevenci záměn vzorků.

Kontrola identifikace nemocného dostupným způsobem jak u nemocných schopných spolupráce, tak u nemocných neschopných spolupráce (bezvědomí, děti, psychiatrickí nemocní, cizinci), kde identifikaci verifikuje zdravotnický personál, případně příbuzní pacienta.

Ověření dodržení potřebných dietních omezení před odběrem.

Kontrola dostupnosti všech pomůcek potřebných pro odběr.

Seznámení pacienta s postupem odběru

Zajištění vhodné polohy paže, tj. podložení paže opěrkou v natažené pozici, bez pokrčení v lokti, u ležících nemocných zajištění přiměřené polohy s vyloučením flexe v lokti. Pacient by neměl při odběru jíst nebo žvýkat.

Kontrola identifikačních údajů na zkumavkách. Bezprostředně před odběrem se musí zkontrolovat kvalita jehly stříkaček a zkumavek.

Aplikace turniketu (škrtidla) jenž smí být aplikován maximálně po dobu 1 minuty. Opakované použití je možné nejdříve až po dvou minutách. Instrukce nemocného k sevření pěsti, opakované „pumpování“ je nevhodné.

Posouzení kvality žilního systému v loketní jamce, zejména s ohledem na zhojenou popáleninu, hematomy, parenterální terapii (volí se vždy opačná paže). Málo zřetelné žíly lze zvýraznit například masáží paže od zápěstí k lokti, krátkými poklepy ukazovákem na místo vpichu, spuštěním paže podél postele.

- Dezinfekce místa vpichu doporučeným prostředkem. Po dezinfekci je nutné kůži nechat oschnout, jednak pro prevenci hemolýzy vzorku, jednak pro odstranění pocitu pálení v místě odběru. Po dezinfekci je další palpce místa vpichu nepřijatelná!!!
- Při použití vakuových systémů se vloží vhodná jehla do držáku, palcem ve vzdálenosti 2 až 5 cm pod místem odběru se stabilizuje poloha žíly, provede se venepunkce a teprve potom se postupně nasazují vhodné zkumavky. Vakuová zkumavka se nesmí nasadit na vnitřní jehlu držáku před venepunkcí, protože by došlo ke zrušení podtlaku ve zkumavce. Jakmile krev začne pomocí vakua vtékat do zkumavky, lze odstranit turniket. Pozice jehly v žíle se přitom nesmí změnit. Je-li ve vakuované zkumavce protisrážlivé nebo stabilizační činidlo, musí se zabránit styku tohoto činidla s víčkem zkumavky nebo případnému zpětnému nasátí krve s činidlem do žilního systému. Vakuum ve zkumavce zajistí jak přiměřené naplnění zkumavky, tak dostatečný poměr krve a protisrážlivého činidla. Jednotlivé zkumavky s přídatnými činidly je nutno bezprostředně po odběru promíchat pěti až desetinásobným šetrným převrácením. Jehla se ze žíly vyjímá samostatně, tedy až po sejmutí poslední vakuované zkumavky z jehly.
- Místo vpichu i s jehlou se zakryje gázovým čtverečkem. Na gázový čtvereček se jemně zatlačí, a pomalým tahem se odstraní jehla ze žíly. Přitom se dbá, aby nedošlo k poranění pacientovy paže.
- Po odběru se za normálních okolností očistí místo odběru sterilní gázou a aplikuje se náplastové nebo gázové zakrytí místa odběru. Pacientovi se doporučí ponechat místo odběru zakryté nejméně 15 minut.


Bezprostředně po odběru je nutné bezpečně zlikvidovat jehly.

Pacientovi se po odběru povolí příjem potravy, pokud tomu nezabraňují jiné okolnosti. Zvláštní péči je nutno věnovat zejména diabetikům léčeným insulinem (včetně možnosti aplikace dávky a požití snídaně).

Pokud se nepodaří odebrat dostatečné množství krve, může se použít některý z následujících postupů:

- změni se pozice jehly
- použije se jiná vakuová zkumavka
- uvolní se příliš zatažený turniket

Opakované sondování jehlou je nepřipustné.

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

Doporučené pořadí odběrů z jednoho vpichu:

1. zkumavka pro hemokultury
2. zkumavky s přísadami K₃EDTA
3. zkumavky pro hemokoagulaci
4. ostatní zkumavky bez přísad (biochemické).

Do laboratoře se odešlou správně označené zkumavky s příslušnými požadavkovými listy.

Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku

Nezbytnou identifikaci biologického materiálu před přidělením laboratorního čísla (kódu) tvoří minimálně příjmení pacienta a číslo pojištěnce (rodné číslo), jinak nelze materiál v laboratoři přijmout (viz dále). Výjimku tvoří nemocní, u nichž není kompletní identifikace k dispozici (neznámé osoby nebo osoby, u nichž jsou k dispozici povinné identifikační znaky jen v částečném rozsahu). Odesílající oddělení je povinno srozumitelně o této skutečnosti informovat laboratoř a zajistit nezaměnitelnost biologického materiálu a dokumentace.

Vzorky pacientů určené k analýze bez pozitivní identifikace pacienta se v laboratoři nesmějí vyskytovat.

Množství vzorku

Podrobné údaje jsou uvedeny u každého analytu (viz. „[Abecední seznam laboratorních vyšetření](#)“).

Nezbytné operace se vzorkem, stabilita vzorku

Transport biologického materiálu z jednotlivých externích zařízení je prováděn tak, aby byly dodrženy požadavky na odběr primárních vzorků a časové limity pro stabilitu analytů. Transport primárních vzorků z jednotlivých oddělení ÚHKT si zajišťují oddělení sama. Veškeré nesrovnalosti týkající se odebraného materiálu nebo dokumentace řeší pracovník laboratoře telefonicky ihned se zdravotnickým personálem příslušného oddělení.


Odebraný biologický materiál je uložen v uzavíratelných plastových nádobách. Dokumentace k materiálu je uložena tak, aby se při rozbití materiálu nezneškodilo.

Zkumavky s materiálem musí být zasílány uzavřené co nejdříve po odběru. Vzorek musí být skladován a transportován v chladu. Vzorek nesmí zmrznout.

Při podezření na přítomnost chladových aglutininů (protilátek) nebo kryoglobulinu, či při již známé informaci o jejich přítomnosti ve vzorku, je pro vyšetření z nesrážlivé krve nutné zajistit transport vzorku ve vytemperované nádobě a co nejrychleji dopravit do laboratoře. V ideálním případě je vhodné provést odběr do vytemperovaných zkumavek (např. ihned po odběru umístit zkumavku do vytemperované vodní lázně).

Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Obecné zásady strategie bezpečnosti práce s biologickým materiálem vycházejí z příslušných právních předpisů a směrnic, a jejich příloh, kterou se upravují podmínky předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a hygienické požadavky na provoz zdravotnických zařízení. Všichni zaměstnanci jsou povinni postupovat při vyšetřování pacientů tak, aby nedocházelo ke vzniku a šíření nozokomiálních nákaz ve smyslu příslušných ustanovení této vyhlášky.

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

Na základě této vyhlášky byly stanoveny tyto zásady pro bezpečnost práce s biologickým materiálem:

- každý vzorek krve je nutné považovat za potenciálně infekční
- žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem – toto je důvodem k odmítnutí vzorku
- vzorky jsou přepravovány v uzavřených zkumavkách, které jsou vloženy do stojánku nebo přepravního kontejneru tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozlití, potřísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku

Při práci s přijímaným materiálem používá s ním manipulující pracovník ochranné pomůcky jako při práci s infekčním materiálem.

Rozlití biologického materiálu při transportu potrubní poštou

Zaměstnanec laboratoře zásilku s biologickým materiálem nerozbaluje a ihned informuje telefonicky odesílající oddělení o vzniklé situaci a technika potrubní pošty, které se postará o dezinfekci a vyčištění potrubní pošty. Laboratoř si od odesílatele vyžádá nový odběr i s patřičnou dokumentací.

6. PREANALYTICKÉ PROCESY V LABORATOŘI

Preanalytická fáze má významný podíl na spolehlivosti a správnosti laboratorního vyšetření. Zahrnuje veškeré procesy před vlastním analytickým stanovením. Je zdrojem preanalytické variability laboratorního výsledku. Některé zdroje lze ovlivnit, jiné jsou neovlivnitelné.

Příjem žádanek a vzorků

Příjem primárních vzorků na veškerá laboratorní vyšetření se provádí v laboratoři. Vzorek musí být správně odebraný, nepoškozený, nepotřísněný a správně identifikovaný v souladu se správně vyplněnou a nepotřísněnou dodanou žádankou. Vzorky se v laboratoři přijímají průběžně, zpracovávají se v intervalech daných režimem pro jednotlivá vyšetření. Za přijetí vzorku odpovídá určený laborant/ka, který/á v případě odmítnutí informuje odesílajícího lékaře.


Příjem vzorků v pracovní dny: 7.00 – 13.00 hod.

Vzorky se předávají osobně pracovníkům laboratoře nebo potrubní poštou.

Skladování vzorků po vyšetření v laboratoři

Není-li uvedeno jinak, řídí se požadavky ke skladování pokyny pro stabilitu materiálu v jednotlivých standardních operačních postupech pro laboratorní vyšetření.

Do doby analýzy během pracovního dne se biologický materiál skladuje tak, aby se zabránilo znehodnocení, rozlití, kontaminaci, přímému vlivu slunečního záření, tepla.

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémíí	117_LP_22_01

Kritéria pro přijetí nebo odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků


<p>Nesoulad v základních identifikačních znacích pro přidělení žádanky ke vzorku biologického materiálu (jméno a příjmení pacienta, rodné číslo pacienta nebo číslo pojistky pacienta)</p>	<p>materiál není přijat dalšímu zpracování.</p>
<p>Je porušen obal (část materiálu vytekla při transportu apod.)</p>	<p>materiál není přijat k dalšímu zpracování</p>
<p>Není správně proveden odběr</p>	<p>materiál není přijat k dalšímu zpracování</p>
<p>Žádanka není řádně vyplněná (schází některé povinné údaje (diagnóza, IČP ordinujícího lékaře, odbornost))</p>	<p>biologický materiál je přijat</p>

Ve zvláště výjimečných případech lze vzorky potřísněné biologickým materiálem či vzorky s menším, než doporučeným, množstvím materiálu vyšetřit. Pracovník přejímající vadné/kolizní vzorky o tomto neprodleně informuje lékaře uvedeného na žádance. Kolizní vzorky jsou vyšetřeny pouze na výslovnou žádost lékaře, který vyšetření požaduje. Výše uvedené skutečnosti jsou zaznamenány v komentáři k výsledkům v LIS.

Za závazné se vždy považují údaje uvedené na štítku vzorku. O odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků je v laboratoři veden záznam.

Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky

<p>Nesoulad v základních identifikačních znacích pro přidělení žádanky k vzorku biologického materiálu (jméno a příjmení pacienta, rodné číslo pacienta nebo číslo pojistky pacienta)</p>	<p>materiál není přijat dalšímu zpracování. dané oddělení nebo ambulance je informováno a požádáno o nový odběr, zapíše se v LIS do komentáře. *</p>
<p>Je porušen obal (část materiálu vytekla při transportu apod.)</p>	<p>materiál není přijat k dalšímu zpracování dané oddělení nebo ambulance je informováno a požádáno o nový odběr, zapíše se v LIS do komentáře. *</p>

Laboratorní příručka	
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

Není správně proveden odběr

materiál není přijat k dalšímu zpracování dané oddělení nebo ambulance je informováno a požádáno o nový odběr, zapíše se v LIS do komentáře. *

* Za každých okolností je tedy nutné naimportovat či založit žádanku.

7. VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ A KOMUNIKACE S LABORATOŘÍ

Veškerý materiál, který je dodán do laboratoře, se zpracovává co možno nejdříve s přihlédnutím na pracovní postupy jednotlivých vyšetření. Výsledky se po kontrole odpovědným pracovníkem vydávají v písemné formě, tzn., že na odděleních klinického úseku UHKT jsou k dispozici v elektronické formě, jakmile jsou kontrolujícím uvolněny do UNISu. V případě telefonického sdělení výsledku provede oprávněná osoba laboratoře záznam. Zaznamená čas, kdo výsledek ohlásil a komu byl výsledek ohlášen.

V případě, že byl přijat pochybnosti budící, klinicky významný, kritický, nebo nenahraditelný vzorek, musí být v závěrečné zprávě po zvážení rizik pro bezpečnost pacienta uvedena podstata problému a případně doporučena opatrnost při interpretaci těch výsledků, které mohou být ovlivněny.

Kontrola výsledků

Po provedení analýz jsou výsledky zapsány či převedeny do LIS, v němž jsou po kontrole odpovědným pracovníkem uvolněny v nemocničním informačním systému pro ošetřujícího lékaře (v rámci pracoviště ÚHKT). Mimo laboratoř je tedy zobrazitelný pouze zkontrolovaný (uvolněný) výsledek. Všechny výsledky jsou v laboratoři dostupné v elektronické i psané formě a jsou archivovány.

Hlášení výsledků v kritických intervalech

Výrazně patologické výsledky se neprodleně telefonují zadávajícímu pracovišti. Pracovník laboratoře přesně zaznamená komu, kdy, kým a jak (telefonicky, přímým osobním sdělením) byl výsledek na oddělení předán.

Informace o formách vydávání výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv


Po provedení analýz jsou výsledky převedeny do LIS, kde jsou po kontrole odpovědným pracovníkem dostupné ošetřujícímu lékaři v systému UNIS (v rámci pracoviště ÚHKT).

Výsledky pro externí zadavatele se vydávají v tištěné formě (běžný je kumulativní nález), výsledkové listy jsou zaslány na pracoviště zadavatele v následující den po dokončení analýzy. Všechny výsledky jsou v laboratoři dostupné v psané a elektronické formě (UNIS). Archivace žádanek: podle směrnice Spisového a skartačního řádu ÚHKT. Komplement laboratoří zpřístupní příslušné informace pacientovi a jakémukoli jinému poskytovateli zdravotních služeb na základě žádosti pacienta, nebo na žádost poskytovatele zdravotních služeb, který jedná jménem pacienta.

Výstup z LIS v podobě výsledkového listu obsahuje:

- název laboratoře, která výsledek vydala
- jednoznačnou identifikaci pacienta (jméno, rodné číslo, popř. číslo pojistky)
- název oddělení a jméno lékaře požadujícího vyšetření

Dokument zobrazený na [Portále SMK](#) je aktuálně platnou verzí, po vytištění slouží pouze pro informativní účely.

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

- datum a čas přijetí primárního vzorku laboratoři
- datum a čas uvolnění nálezu
- název vyšetřovaného systému (skupiny)
- nezaměnitelnou identifikaci vyšetření
- výsledek vyšetření včetně jednotek měření a tam, kde je to možné, rovněž referenční intervaly
- v případě potřeby textové interpretace výsledků
- jiné poznámky (označení vzorku v LIS, texty ke kvalitě nebo dostatečnosti primárního vzorku, které mohou nežádoucím způsobem ovlivnit výsledek atd.)
- identifikaci osoby, která autorizovala uvolnění nálezu

Vydávání výsledků přímo nemocným

Výdej výsledků pacientovi je možný na základě jeho žádosti. Personál vydávající výsledek musí mít jistotu v identifikaci nemocného. Musí předložit průkaz totožnosti (občanský průkaz, pas nebo průkaz pojištěnce). Lze vydat výsledky do rukou pacienta pro informaci jeho samého, anebo třetí osoby. Lze vydat jak běžný denní výsledek (musí však být validovaný), anebo již dříve archivovaný výsledek. Výsledky se vytisknou z UNISu a vloží se do obálky. Je-li výsledek určen pro třetí osobu, je obálka poté zalepena, označena podpisem přes lepení a vydána pacientovi.

Telefonické hlášení výsledků


Výsledky lze telefonicky sdělovat pouze ošetřujícím lékařům a těm, kteří se podílejí na ošetřování daného pacienta. Po telefonickém sdělení výsledku provede oprávněná osoba laboratoře záznam. Zaznamená čas, kdo výsledek ohlásil a komu byl výsledek ohlášen. Výsledky se telefonicky nesdělují žádným jiným zdravotnickým ani nezdravotnickým pracovníkům (uklízečky, civilní služba, sanitárky), ani pacientům.

Pověření pracovníci laboratoře sami hlásí výsledky v následujících situacích:

- výsledky vyžadující neodkladné oznámení
- zásadní komentář k výsledkům laboratorních vyšetření (v neodkladných případech).

Pověření pracovníci laboratoře odpovídají na telefonickou žádost o výsledek vyšetření:

- mimo výše uvedený výčet případů jsou telefonické dotazy zcela výjimečné a musí být žadatelem řádně odůvodněné
- žadatel o telefonický výsledek vyšetření musí uvést pracoviště, odkud volá a své jméno
- pokud je pracovník laboratoře odpovídající na dotaz v pochybnostech o identifikaci volaného a jedná se o závažný laboratorní údaj, vyžádá si telefonní číslo oddělení, odkud je vznášen požadavek, spojí se s uvedeným žadatelem opětovně a oznámí požadované údaje. V případě jakýchkoliv nejasností může požadovat k telefonu jinou kompetentní osobu.

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

Změny výsledků a nálezů

Změna identifikace pacienta (jméno a příjmení pacienta, rodné číslo pacienta nebo číslo pojistky pacienta)	při zadávání žádanky do počítače - provede laborant
Oprava nebo změna rodného čísla, sloučení špatně zadaného rodného čísla se správným (příjmení, titulu, pojišťovny)	provede po nahlášení správce počítačové sítě
Oprava výsledků (nálezů)	V případě validovaných výsledků, které ještě nebyly účtovány, provede lékař laboratoře
	V případě výsledků, které již byly účtovány a jsou v historické databázi, provede opravu správce sítě.

Opravený výsledek v případech, že nebyl ještě odeslán a změna může mít vliv na péči o pacienta anebo byl již nahlášen telefonicky, se **vždy oznámí telefonicky** a pokud byl výsledkový list již odeslán, pošle se nový a změna se také nahlásí telefonicky. O nahlášení se vede záznam.

Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku

Intervaly se liší podle druhu požadavku; výsledkový list je odeslán následující den po ukončení posledního vyšetření z dané žádanky.


Rutinní požadavky jsou ihned po doručení do laboratoře zpracovávány a jednotlivé vzorky analyzovány. Prostřednictvím LIS laboratoř eviduje čas přijetí každého vzorku, čas vyhotovení výsledků a laboratorních vyšetření, čas tisku (je vytištěn na každém výsledkovém listu). Podrobné časové údaje k jednotlivým laboratorním položkám jsou uvedeny v kapitole 5 - „[Abecední seznam laboratorních vyšetření](#)“.

Zbytková rizika

Laboratoř si je vědoma existence zbytkových rizik, která se pokusila snížit na minimum. Zbytková rizika jsou dostupná v laboratoři na požádání, pokud je to relevantní v rámci daného vyšetření.

8. ZPŮSOB ŘEŠENÍ STÍŽNOSTÍ

Stížnosti mohou být adresovány na vedení laboratoře, případně další pracovníky. Není-li stížnost k práci laboratoře adresována přímo vedoucímu laboratoře, řeší ji pracovník, který ji přijal a informuje vedoucího laboratoře. Výsledek a způsob řešení je evidován.

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

Drobné připomínky k práci laboratoře přijímá a okamžitě řeší kterýkoliv pracovník laboratoře a následně informuje svého nadřízeného. Vyřizování všech ostatních stížností je věcí vedoucího laboratoře. Postup se řídí Směrnice ředitele ÚHKT Vyřizování stížností.

Zaměstnanci KL jsou vázáni přísnou mlčenlivostí, ctí práva stěžovatelů a regulačních orgánů. Totožnost zdroje stížnosti zůstává vždy uchováována v tajnosti a bez písemného souhlasu nemůže být prolomena. Prošetřování a řešení stížností nesmí vést k diskriminačním opatřením. Řešení stížností provádějí nebo přezkoumávají a schvalují osoby, které nejsou zapojeny do dané stížnosti. Pokud to zdroje neumožní, nesmí žádný alternativní přístup ohrozit nestrannost.

9. OCHRANA INFORMACÍ

Všichni zaměstnanci laboratoře si jsou vědomi povinnosti zachovávat mlčenlivost o veškerých informacích získaných v průběhu poskytování služby a své povinnosti chovat se tak, aby práva zákazníka a pacienta nebyla poškozena.

Ochrana informací se řídí platnými právními předpisy a vnitřními předpisy ÚHKT. Pravidla pro zachování důvěrnosti informací a ochranu elektronicky ukládaných dat jsou zavedena ve dvou úrovních:

- Každý pracovník se podpisem závazku důvěrnosti a mlčenlivosti zavazuje k mlčenlivosti o skutečnostech, o nichž se dozvěděl v souvislosti s výkonem svého povolání s výjimkou případů, kdy skutečnost sděluje na základě oznamovací povinnosti dle zvláštních předpisů.
- V laboratoři jsou zavedena a dodržována systémová a technická opatření pro zabezpečení důvěrnosti informací, především ochrana písemných i elektronických dokumentů pomocí řízeného přístupu se specifickými oprávněními pro jednotlivé skupiny pracovníků.
- Zaměstnanci pracují v souladu s nastavenými předpisy v oblasti GDPR.

10. KONZULTAČNÍ ČINNOST

O konzultaci lze požádat na všech laboratorních úsecích. Příslušnou informaci podá vždy kompetentní zdravotnický pracovník pro danou problematiku (laborant, VŠ nebo lékař).

Odborné informace jsou poskytovány vedoucím laboratoře.

11. SEZNAM LABORATORNÍCH VYŠETŘENÍ

Autohemolýza

Název vyšetření na žadance: Autohemolýza

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: odběrový systém s protisrážlivou úpravou: Li heparin nebo K3-EDTA

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru, materiál musí být zpracován do 8 hodin po odběru (viz str.13, bod 6).

Referenční rozmezí:

Parametr	Hodnota v %
Autohemolýza bez glukózy	0,1 – 3,4
Autohemolýza s glukózou	do 0,7

Omezení a interference:

vyšetření se provádí pouze v pracovní dny (pondělí–středa) 7–13 hodin.

Dostupnost: do 72 hod

Hodnocení:

Spolehlivá interpretace testu je možná jen na základě komplexního hodnocení více testů a porovnání výsledků s celkovým klinickým obrazem. U normálního vzorku se hemolýza vždy po přidání glukózy snižuje. V případě hereditární sférocytóza je Autohemolýza výrazně zvýšena, po přidání glukózy se snižuje, u paroxysmální noční hemoglobinurie je Autohemolýza také zvýšená, ale po přidání glukózy se hemolýza neupravuje.

ELFO hemoglobinů – na analyzátoru MINICAP (kapilární elektroforéza) vyšetřovací sada MINICAP HEMOGLOBIN(E)

Název vyšetření na žádance: ELFO Hb

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: odběrový systém s protisrážlivou úpravou K3-EDTA

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru, maximálně do jednoho dne po odběru při dodržení transportních podmínek (viz str.13, bod 6)

Dostupnost: do 5 pracovních dnů

Omezení: v pracovní dny od 7–13 hodin

Referenční rozmezí:

Parametr	Rozmezí
Hb A	96.8–97.8 %
Hb F	<0.5 %
Hb A2	2.2–3.2 %
Hb S	přítomnost Hb S znamená vždy patologii, hodnota je vyjádřena v % včetně slovní interpretace výsledku

Interference:

U abnormálních hemoglobinů putujících v blízkosti Hb A může dojít k podhodnocení množství Hb A a nadhodnocení množství Hb A2.

Dokument zobrazený na [Portále SMK](#) je aktuálně platnou verzí, po vytištění slouží pouze pro informativní účely.

Skladování při teplotě 2–8 °C po více než 7 dní vede k degradaci hemoglobinu a výsledky je nutno interpretovat s přihlédnutím k odlišné elektroforetické pohyblivosti degradovaných Hb (viz manuál pro jednotlivé varianty Hb).

Nelze užít vzorky nesedimentované plné krve a vzorky s vysokým obsahem plasmy.

Přítomnost erytrocytárních protilátek vede k agregaci erytrocytů a degradaci Hb s možným ovlivněním výsledků elfo.

Hodnocení:

Abnormální hemoglobiny vznikají záměnou aminokyseliny v globinovém řetězci nebo změnou pořadí aminokyselin v globinovém řetězci. Jedná se o vrozená onemocnění. Dnes známe několik set typů bodových mutací, některé jsou neškodné, jiné mohou změnit vazbu kyslíku na molekulu hemoglobinu, puřovací účinek hemoglobinu, rozpustnost či stabilitu hemoglobinu. To vede často ke zkrácení životnosti erytrocytů a k hemolytické anémii. Někdy vede záměna aminokyseliny ke snížené produkci informační RNA, následuje snížená syntéza patologického hemoglobinu a zvýšená syntéza hemoglobinu fetálního. Některé abnormální hemoglobiny mohou mít za následek i pozměněnou morfolonii erytrocytu.

Sada MINICAP HEMOGLOBIN(E) je navržena pro oddělení normálních hemoglobinů (A, F a A2) a pro detekci většiny variant hemoglobinů (zejména S, C, E nebo D) kapilární elektroforézou v systému MINICAP v alkalickém tlumivém roztoku (pH 9,4). Pro získání kompletního profilu hemoglobinů jsou všechny sekvence a kvantitativní a kvalitativní analýza prováděny automaticky. Abnormální hemoglobiny lze detektovat na základě jejich odlišné pohyblivosti od normálních hemoglobinů v elektrickém poli vznikající díky změně elektrického náboje a rozpustnosti molekuly.

Fetální hemoglobin

Hodnocení:

Ve vzorku erytrocytů zdravých jedinců je přítomno do 0,5 % hemoglobinu F. U novorozenců bývá až 90 % hemoglobinu F, po 4 měsících klesá množství hemoglobinu na 10 % a po 6–24 měsících hladina klesne na 4 %. Zvýšené množství fetálního hemoglobinu nacházíme u thalasémie a u některých jiných hemoglobinopatií. Fetální hemoglobin se také zvyšuje u megaloblastové anémie, kongenitální aplasie červené řady, paroxysmální noční hemoglobinurie, leukémie, myelofibrózy, některých forem myelodysplastického syndromu a v průběhu těhotenství.

Mutace HBB

Název vyšetření na žádance: *Mutace HBB*

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: odběrový systém s protisrážlivou úpravou K3-EDTA

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru, materiál musí být zpracován viz. Laboratorní příručka odd. genomiky.

Omezení a interference: v pracovní dny (pondělí–pátek) 7–13 hodin

Dostupnost: viz Laboratorní příručka odd. genomiky

Glukózo-6-fosfát dehydrogenáza (dále jen G6PDH)

(117_SOP_11_02)

Název vyšetření na žádance: G6PDH**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev**Odběr:** odběrový systém s protisrážlivou úpravou K3-EDTA**Manipulace s materiálem (transport):** do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru, maximálně do dvou dnů po odběru při dodržení skladovacích a transportních podmínek (viz str.13, bod 6).**Referenční rozmezí:**

Parametr	Hodnota v IU/10 ¹² RBC
Referenční rozmezí:	171–428

Omezení a interference:

v pracovní dny od 7–14 hodin. Před vyšetřením není vhodné podávat pacientovi erymasu.


Dostupnost: do 5 pracovních dnů**Hodnocení:**

Glukózo-6-fosfát dehydrogenáza (dále jen G6PDH) je první a klíčový enzym pentózového cyklu vedoucího k produkci polyolů. Tento enzym katalyzuje dehydrogenaci glukózy-6-fosfátu na 6-fosfoglukonolakton za současné redukce NADP⁺ na NADPH.

Deficit glukózo-6-fosfát-dehydrogenázy (G6PD) je nejběžnější enzymový defekt, způsobující onemocnění u člověka – odhaduje se, že postihuje 400 milionů lidí po celém světě. Tento deficit je dědičný gonosomálně recesivně. Je to velmi heterogenní porucha s mnoha variantami bodových mutací a delecí a s velmi variabilní expresí genu. Byla odedávna známa v oblastech kolem Středozemního moře. Deficit G6PD poskytuje, podobně jako srpkovitá anémie a thalasémie, určitou ochranu vůči malárii. U deficitu G6PD snižují léky s oxidačním účinkem hladinu redukováného glutationu v buňce a následné oxidativní poškození vede k hemolýze. **Favismus** je těžká hemolytická anémie, která vznikne u jedinců trpících tímto deficitem po požití bobu Vicia fava. Další nebezpečí přinášejí jedincům s deficitem sulfonamidová antibiotika a řada látek se schopností působit jako oxidační činidla. V našich krajích se onemocnění projevuje především jako chronická hemolytická anémie mírného stupně. V nátěru periferní krve nemocných s deficitem G6PD nacházíme Heinzova tělíška.

Hamův test**Název vyšetření na žádance:** PNH test**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá + srážlivá krev**Odběr:** odběrový systém s protisrážlivou úpravou K3-EDTA.

Současně je potřeba odebrat 5 ml nativní krve – odběrový systém s aktivátorem srážení.

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru. Materiál musí být zpracován v den odběru (viz str.13, bod 6).

Referenční rozmezí:

Parametr	Hodnota v %
Referenční rozmezí:	do 3 %

Omezení a interference: v pracovní dny od 7–12 hodin. Před vyšetřením není vhodné podávat pacientovi erymasu.

Dostupnost: do 24 hodin

Hodnocení:

Orientační test k diagnostice paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH).

Při PNH vznikají erythrocyty podléhající lýze komplementem v důsledku deficitu membránových antigenních systémů inhibujících aktivovaný komplement (CD59 a CD55 antigen), vlastní příčinou je defektní syntéza glykosyl-fosfatidyl inositolu, pomocí něž jsou tyto antigeny vázány k buněčné membráně. Tento proces kóduje skupina tzv. PIG-A genů. Erythrocyty nemocných s PNH lyzují působením komplementu v okyseleném séru při 37 ° C. Při použití vlastního séra pacienta bývá hemolýza zřetelnější (okyselené aktivní sérum hemolyzuje PNH krvinky, okyselené inaktivované sérum nevyvolá hemolýzu PNH krvinek, ale může hemolyzovat krvinky nemocných se sférocytozou). U nemocných s kongenitální dyserythropoetickou anémií (CDA) II. typu dochází k hemolýze po přidání dárcovského, nikoli autologního séra; určité procento PNH erythrocytů může být přítomno u nemocných s MDS.

Pozitivitu Hamova testu je vhodné ověřit pomocí průtokové cytometrie (FCM), jež prokazuje snížení exprese znaků CD55 a CD59 na membráně erythrocytů nebo na jiných klonální změnou postižených buňkách. Pomocí molekulárně genetických metod lze dnes stanovit i typ a rozsah mutace PIG-A genu.

Osmotická rezistence erythrocytů

Název vyšetření na žádance: *osmotická rezistence*

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: odběrový systém s protisrážlivou úpravou K3-EDTA.

Manipulace s materiálem (transport): odebraný materiál je nutno dopravit do laboratoře ke zpracování v den odběru (viz str.13, bod 6).

Omezení a interference: v pracovní dny (pondělí–čtvrtek) od 7–13 hodin.

Dostupnost: do 28 hodin.

Referenční rozmezí:

Hodnotíme minimální a maximální hemolýzu erythrocytů při dané teplotě a koncentraci NaCl v %.

Parametr	Hodnota v %
Fyziologické hodnoty:	minimální 0,42 – 0,48 % NaCl maximální 0,26 – 0,32 % NaCl
Patologické hodnoty:	minimální 0,50 – 0,60 % NaCl maximální od 0,34 % NaCl
Varovné hodnoty:	minimální od 0,62 % NaCl maximální od 0,38 % NaCl

Hodnocení:

Test osmotické rezistence udává míru schopnosti červených krvinek nasát do nitra buňky tekutinu, aniž by došlo k porušení integrity buňky. Snížení osmotické rezistence je charakteristické pro dědičnou sférocytózu, zvláště po 24 hodinové inkubaci. Snížení je dále přítomno u autoimunitních hemolytických anémii. Zvýšená rezistence je nalézána při thalasémiích v homozygotní i heterozygotní formě, dále při deficitu železa, některých jaterních chorobách, po splenektomii, u polycytémia vera a u srpkovité anémie.

PINK test

Název vyšetření na žádance: *Pink test*

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: odběrový systém s protisrážlivou úpravou K3-EDTA

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru. Materiál musí být zpracován v den odběru (viz str.13, bod 6).

Omezení a interference: v pracovní dny od 7–13 hodin. Před vyšetřením není vhodné podávat pacientovi erymasu.

Dostupnost: do 24 hodin

Referenční rozmezí:


Parametr	Hodnota v %
referenční rozmezí	do 25
dědičná sférocytóza	45–90

Hodnocení:

V testu se stanovuje schopnost rezistence erytrocytové membrány vůči hemolýze v prostředí kritické koncentrace glycerolu o pH 6,6. Určujeme konečné procento hemolýzy. Pro snadné a rychlé provedení (ve srovnání s testem na osmotickou rezistenci a testem autohemolýzy) se test používá jako doplňující a vyhledávací vyšetření na dědičnou sférocytózu.

EMA test

Název vyšetření na žádance: *EMA test*

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Laboratoř anémíí	117_LP_22_01

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: systém s protisrážlivou úpravou citrát-dextróza (ACD)

Manipulace s materiálem: do laboratoře musí být vzorek dopraven v den odběru. Materiál musí být zpracován do druhého dne po odběru, do analýzy uchováván v lednici.

Referenční rozmezí: Výsledek je udán jako procentní odchylka od průměru hodnot u zdravých jedinců. Odchylka do 5 % je považována za normální výsledek. Pokles o více než 10 % je známkou dědičné sférocytózy.

Dostupnost: do 48 hodin

Hodnocení:

Orientační test pro stanovení diagnózy hereditární sférocytózy a některých dalších poruch membránového cytoskeletu erytrocytů. Deficit některého z proteinů membránového skeletu (obvykle spektrinu, ankyrinu nebo proteinu Band3) se projeví snížením intenzity obarvení erythrocytů eosin-maleimidem (EMA). EMA test má citlivost 93 % a specifitu 98 % pro detekci dědičné sférocytózy (literární údaje).

Pyruvátkináza (dále jen PK)

Název vyšetření na žádance: PK

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: odběrový systém s protisrážlivou úpravou K3-EDTA

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru. Materiál musí být zpracován v den odběru (viz str.13, bod 6).

Referenční rozmezí:

Parametr	Hodnota v IU/10 ¹² RBC
Referenční rozmezí:	2,2 – 4,2

Omezení a interference: vyšetření se provádí *pouze po předchozím objednání*. Před vyšetřením není vhodné podávat pacientovi erymasu.


Dostupnost: do 2 pracovních dnů

Hodnocení:

Enzym pyruvátkináza ze vzorku katalyzuje reakci přidaných chemikálií. NADH, jenž fluoreskuje v oblasti UV světla, je při této reakci spotřebován a úbytek absorbance je tedy nepřímo úměrný koncentraci PK.

Deficit pyruvátkinázy je nejčastější poruchou postihující enzymy anaerobní glykolýzy. Tento systém zpracovává 90 % dodané glukózy a představuje díky tvorbě ATP hlavní energetický zdroj pro erytrocyt. Energetický deficit vede k poruše plasticity a deformability krvinky a k extravaskulární hemolýze. Jde o autosomálně recesivní onemocnění, postihující jeden či dva geny kódující většinou různé varianty enzymu.

Klinický obraz: u homozygotů je přítomna těžká hemolytická anémie, u jednoduchých či dvojitých heterozygotů jde o většinou o různý stupeň chronické hemolytické anémie s ikterem a

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř anémii	117_LP_22_01

hepatosplenomegalií. V laboratorním nálezu dominuje normochromní normo-až makrocytární anémie s retikulocytózou a hyperbilirubinemií.

Diferenciální diagnóza: pro odlišení od jiných korpuskulárních anémii je důležitý průkaz snížené aktivity pyruvátkinázy.

Nestabilní hemoglobin (vyšetření tepelné stability hemoglobinu)

Název vyšetření na žádance: Tep.stab.Hb

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: odběrový systém s protisrážlivou úpravou K3-EDTA

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru. Materiál musí být zpracován v den odběru (viz str.13, bod 6).

Referenční rozmezí: normální nález – bez známek zákalu

Omezení a interference: v pracovní dny od 7–12 hodin

Dostupnost: do 5 pracovních dnů

Hodnocení:

Nestabilní hemoglobiny vznikají záměnou aminokyseliny v globinovém řetězci za jinou nebo změnou pořadí aminokyselin v globinovém řetězci v kritickém místě důležitém pro vazbu hemu s globinem. Takto vzniklé hemoglobiny mohou mít změněnou funkci, rozpustnost a stabilitu. Nestabilní hemoglobiny můžeme prokázat pomocí zahřívání hemolyzátu krvinek při 50°C / 60 min. Nestabilní Hb za těchto podmínek precipituje (porucha stability vazby mezi hemem a globinem). Při vyšetření nátěru periferní krve můžeme při přítomnosti nestabilního hemoglobinu nacházet Heinzova tělíška.

Komentář k seznamu všech vyšetření

Vyšetřovaný materiál: biologický materiál, ze kterého se vyšetření provádí

Odběr: údaj o odběrovém systému

Manipulace s materiálem (transport): požadavky na uchování a transport vzorku před přijetím laboratoří.

Referenční rozmezí: fyziologické hodnoty se mohou měnit (např. při změně metodiky apod.), aktuální referenční rozmezí daného vyšetření jsou uvedeny na výsledkovém listu.

Dostupnost: udává max. čas od přijetí vzorku laboratoří do vydání písemného výsledku za běžného provozu.

Hodnocení: poznámky ke klinickému významu vyšetření, interpretaci apod.

12. Rozdělovník

Číslo výtisku	Uložení
1	Portál SMK
2.	WEB ÚHK