




Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

OBSAH

1. ÚVOD.....	4
2. 1 IDENTIFIKACE LABORATOŘE A DŮLEŽITÉ ÚDAJE	5
2. 2 ZÁKLADNÍ INFORMACE O LABORATOŘI.....	5
2. 3 ZAMĚŘENÍ LABORATOŘE	5
2. 4 ORGANIZACE LABORATOŘE, VNITŘNÍ ČLENĚNÍ.....	6
2. 5 SPEKTRUM NABÍZENÝCH SLUŽEB.....	6
3. MANUÁL PRO ODBĚRY PRIMÁRNÍCH VZORKŮ.....	7
3. 1 ZÁKLADNÍ INFORMACE	7
3. 2 POŽADAVKOVÉ LISTY (ŽÁDANKY).....	7
<i>Základní identifikační znaky požadované na žadance</i>	7
<i>Samoplátci</i>	8
3. 3 POŽADAVKY NA DODATEČNÁ A OPAKOVANÁ VYŠETŘENÍ.....	8
3. 4 POUŽÍVANÝ ODBĚROVÝ SYSTÉM.....	9
3. 5 PŘÍPRAVA PACIENTA PŘED VYŠETŘENÍM, ODBĚR VZORKU	9
<i>Příprava pacienta na odběr</i>	9
<i>Hlavní chyby při odběrech krve</i>	9
<i>Chyby při přípravě nemocného</i>	10
<i>Chyby způsobené nesprávným použitím škrtila při odběru</i>	10
<i>Chyby vedoucí k hemolýze vzorku</i>	10
<i>Chyby při skladování a transportu</i>	10
<i>Vliv infuzní terapie – odběr nejdříve hodinu po infuzi</i>	11
<i>Odběry z centrálních katetrů a kanyl</i>	11
<i>Pokyny k odběru krve vakuovým systémem</i>	11
<i>Pracovní postup žilního odběru krve</i>	12
<i>Doporučené pořadí odběrů z jednoho vpichu:</i>	13
3. 6 IDENTIFIKACE PACIENTA NA ŽÁDANCE A OZNAČENÍ VZORKU.....	13
3. 7 MNOŽSTVÍ VZORKU	14
3. 8 NEZBYTNÉ OPERACE SE VZORKEM, STABILITA	14
3.9 ZÁKLADNÍ INFORMACE K BEZPEČNOSTI PŘI PRÁCI SE VZORKY	14
4. PREANALYTICKÉ PROCESY V LABORATOŘI	15
4. 1 PŘÍJEM ŽÁDANEK A VZORKŮ	15
4. 2 KRITÉRIA PRO PŘIJETÍ NEBO ODMÍTNUTÍ VADNÝCH (KOLIZNÍCH) PRIMÁRNÍCH VZORKŮ	15
4. 3 POSTUPY PŘI NESPRÁVNÉ IDENTIFIKACI VZORKU NEBO ŽÁDANKY.....	16
5. VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ A KOMUNIKACE S LABORATOŘÍ	17
<i>Uvolnění výsledků</i>	17
5. 1 HLÁŠENÍ VÝSLEDKŮ V KRITICKÝCH INTERVALECH	17
5. 2 INFORMACE O FORMÁCH VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ, TYPY NÁLEŽŮ A LABORATORNÍCH ZPRÁV.....	17
<i>Vydávání výsledků přímo pacientům</i>	18
<i>Telefonické hlášení výsledků</i>	18
5. 3 ZMĚNY VÝSLEDKŮ A NÁLEŽŮ.....	19
5. 4 INTERVALY OD DODÁNÍ VZORKU K VYDÁNÍ VÝSLEDKU	19
5. 5 ZPŮSOB ŘEŠENÍ STÍŽNOSTÍ.....	20
5. 6 KONZULTAČNÍ ČINNOST	20
6. ABECEDNÍ SEZNAM LABORATORNÍCH VYŠETŘENÍ.....	20
<i>Spektrofotometrické stanovení volného hemoglobinu v plasmě</i>	20

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

6.2. SPECIÁLNÍ VYŠETŘENÍ	21
<i>8-methoxypsoralen (8-MOP)</i>	21
<i>Busulfan</i>	21
<i>Dysfibrinogenemie</i>	22
<i>Heparin indukovaná trombocytopenie (HIT)</i>	23
<i>Itrakonazol (Itra)</i>	23
<i>Malondialdehyd (MDA)</i>	24
<i>Glivec</i>	25
KOMENTÁŘ K SEZNAMU VYŠETŘENÍ.....	25

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

1. ÚVOD

Vážené kolegyně, vážení kolegové, vážení pacienti

dovolujeme si Vám předložit tuto laboratorní příručku, která má za úkol komplexně informovat o činnosti Oddělení biochemie. Je určena všem spolupracujícím zdravotníkům a poskytuje popis všech dostupných vyšetření, které naše laboratoř provádí.

Obsah laboratorní příručky byl koncipován v souladu s normou ČSN EN ISO 15189 Zdravotnické laboratoře – požadavky na kvalitu a způsobilost.

Struktura se řídí Akreditačními standardy pro klinické laboratoře. Obecně platné instrukce a pokyny byly převzaty z materiálů publikovaných na stránkách ÚKBLD VFN, SZU a dále byly převzaty materiály z odborných publikací.

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 ro odběry, identifikaci a příjem vzorků a vydávání nálezů. Tato pravidla byla vypracována v souladu se současnou legislativou, doporučeními odborných společností a akreditačními normami a z nich vyplývajícími standardy a 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 Oddělení biochemie

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

2. INFORMACE O LABORATOŘI

2. 1 Identifikace laboratoře a důležité údaje

ODDĚLENÍ BIOCHEMIE

- Laboratoř je akreditována ČIA pod č. 8081 dle ČSN EN ISO 15189

ÚHKT ODDĚLENÍ BIOCHEMIE

U nemocnice 1, 128 20, Praha 2

Telefonní spojení: 2 2197 7207
 FAX: 2 2197 7208
 Webová stránka: www.uhkt.cz
 Vedoucí oddělení: **Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.**
 Manažer kvality: **Hana Feixová**
 e-mail: jan.dyr@uhkt.cz

Provozní doba: po – pa 7:00 – 15:30

Příjem vzorků: po – pa 7:00 – 14:00

2. 2 Základní informace o laboratoři

Oddělení biochemie je součástí výzkumného úseku a Komplementu laboratoří ÚHKT. Ústavu hematologie a krevní transfúze (ÚHKT). Laboratoř se nachází v budově C, 1.NP. Laboratoř je vybavena moderními přístroji a výpočetní technikou.

2. 3 Zaměření laboratoře


Oddělení biochemie se zabývá studiem struktury a funkce krevních destiček a krevních bílkovin účastnících se hemostázy (zástavy krvácení) a trombózy.

Klíčové metodiky a oblasti výzkumu jsou proteomika, interaktomika, komplexomika a metabolomika v hemostáze a onkohematologii.

Pomocí metod molekulární biologie a hmotnostní spektrometrie jsou dlouhodobě sledovány hypofibrinogenémie a vrozené i získané dysfibrinogenémie. U získaných a dědičných mutací fibrinogenu je hledán vztah mezi změněnou strukturou a jeho vlastnostmi. Získané poznatky jsou využívány k posouzení změn ve struktuře a funkci fibrinogenu u onkohematologických pacientů a při oxidačním stresu.

Probíhá analýza subproteomů bílkovin plazmy a krevních elementů hmotnostní spektrometrií. Hledají se rozdíly v expresi bílkovin a jejich posttranslační modifikaci s cílem přispět k porozumění patogenezi onkohematologických onemocnění.

Oddělení biochemie provádí stanovení markerů oxidačního stresu pomocí vysoceúčinné kapalinové chromatografie, např. malondialdehydu, hydroxylových radikálů. Stanovení

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

antioxidantů vitamínů A, E, C, resveratrolu, serotoninu, kyseliny močové obraz oxidačního stresu doplňují. Jak působí oxidační stres na krevní destičky je zjišťováno pomocí elektroforetických metod, hmotnostní spektrometrie, agregometrie, dynamické a statické adheze. Měření adheze se využívá i při studiu fibrinogenu. Vlastnosti fibrinogenu jsou také zjišťovány pomocí skenovací a transmisní elektronové mikroskopie ve spolupráci s Ústavem makromolekulární chemie AV ČR. Ve spolupráci s Ústavem organické chemie a biochemie AV ČR je hledána přítomnost pozměněných molekul fibrinogenu v plasmě a jejich inkorporace do fibrinové sítě pomocí hmotnostní spektroskopie. Vývoj proteinových čipů pro diagnostiku vybraných onkohematologických onemocnění pomocí optické metody rezonance povrchového plazmonu (surface plasmon resonance, SPR) umožňující sledovat proteinové interakce v reálném čase probíhá ve spolupráci s Ústavem fotoniky a elektroniky AV ČR.

Na oddělení se provádí některá speciální DNA diagnostika pro imuno hematologii a krevní koagulaci.

Oddělení biochemie provádí rutinní diagnostiku heparinem indukované trombocytopenie (ve spolupráci s Laboratoří imuno hematologie), vyšetření dysfibrinogenemie, stanovení volného hemoglobinu, busulfanu, itraconazolu, inhibitorů tyrosinových kinas, 8-metoxypsoralenu a malondialdehydu.

2. 4 Organizace laboratoře, vnitřní členění

Počet pracovníků a jejich odborná způsobilost

Lékaři: 2

VŠ ostatní: 14

SZP: 1

Přístup na pracoviště

Vstup na Oddělení biochemie (9 oddělených místností) je povolen pouze osobám pracujícím v této laboratoři a jejich nadřízeným. Jiné osoby (zdravotničtí pracovníci jiných úseků, servisní technici, údržba) mohou na oddělení vstoupit pouze se souhlasem zaměstnance laboratoře.

2. 5 Spektrum nabízených služeb


Rutinní vyšetření

Laboratoř provádí stanovení volného hemoglobinu.

Speciální vyšetření

Laboratoř provádí stanovení busulfanu, itraconazolu, glivecu, 8-metoxypsoralenu, malondialdehydu, podílí se na diagnostice heparin indukované trombocytopenie, disfibrinogenémie.

Běžná vyšetření jsou prováděna denně. Speciální vyšetření pouze po předchozím

Laboratorní příručka	
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

objednání. Podrobnější informace o provedení a vyhodnocení těchto testů najdete v **kapitola 6**, Abecední seznam laboratorních vyšetření. Informovaný souhlas pro pacienty najdete v [příloze č. 3](#).

3. MANUÁL PRO ODBĚRY PRIMÁRNÍCH VZORKŮ

Pracoviště a externí pracovníci provádějící přípravu pacienta nebo odběry vzorku mají být seznámeni s tímto [Manuálem pro odběry primárních vzorků](#), manuál by měl být trvale k dispozici v elektronické podobě www.uhkt.cz nebo papírové podobě u vedoucích laboratoří. Rozsah vyšetření prováděných v laboratorních klinického úseku je průběžně aktualizován, v souladu s rozvojem medicínských znalostí a formou nabídky laboratorních vyšetření dáván na vědomí svým klinickým partnerům (lůžkovým i ambulantním zařízením), spolu s požadavky na způsob odběru biologického materiálu.

3. 1 Základní informace

Základní informace o odběrech primárních vzorků na jednotlivá vyšetření viz **kapitola 6**, Abecední seznam laboratorních vyšetření.

Laboratoř respektuje pravidla "Správné laboratorní praxe", odborná doporučení a akreditační standardy, což vede k dodržování režimu postupu provádění vyšetření i s ohledem na stabilitu stanovovaných analytů ve vyšetřovaných vzorcích.

3. 2 Požadavkové listy (žádanky)


Veškeré požadavky na prováděná vyšetření z ÚHKT jakož i výsledky jsou zpracovány pomocí laboratorního informačního systému (LIS), který je součástí nemocničního systému (NIS) UNIS firmy Steiner, spol. s r. o.

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

Základní identifikační znaky požadované na žadance

- jednoznačnou identifikaci pacienta (jméno, číslo pojištěnce, datum narození, pohlaví)
- kód pojišťovny pacienta
- základní a event. další diagnózy pacienta
- datum a čas odběru
- datum a čas převzetí vzorku laboratoří
- jednoznačná identifikace zadavatele (název zařízení, oddělení, jméno lékaře, IČP, odbornost, a u externích zadavatelů i razítko, adresa a telefon)
- vypsaná nebo zaškrtnutá požadovaná vyšetření

Nepovinné, fakultativní údaje:

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

Na žádance lze uvést doplňující klinické informace týkající se pacienta a vyšetření (pro interpretační účely). Pro některá vyšetření je uvedení těchto údajů povinné (viz **kapitola 6**, Abecední seznam laboratorních vyšetření).

Datum a čas přijetí vzorku do laboratoře je automaticky evidován v LIS přijetím elektronické žádanky (či po jejím vytvoření přímo v laboratoři – při konziliárním vyšetření) – toto laborant provádí okamžitě po fyzickém přijetí biologického materiálu s papírovou žádankou.

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 veškeré 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.

Výsledky jsou zasílány 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.

3. 3 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:

1. dodatečná vyšetření požadovaná akutně (*statim*) budou provedena neprodleně po telefonickém doobjednání, ostatní vyšetření budou provedena v rámci rutinního provozu. Dodatečně, s ohledem na pravidla stanovená zdravotními pojišťovnami, musí být do laboratoře doručena žádanka s přioobjednaným vyšetřením. **Výsledky dodatečných vyšetření budou vydány až po zaslání dodatečné žádanky.**

2. 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 viz **kapitola 6**, Abecední seznam laboratorních vyšetření.

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

3. 4 Používaný odběrový systém

U jednotlivých analytů jsou uvedeny vhodné druhy odběrového materiálu (médiá a případné speciální požadavky na odběr. Při odběrech se respektujte předepsaný druh odběrového i biologického materiálu. Tabulka odběrových systémů viz [příloha č. 1](#). Pro odběry jsou používány zkumavky sterilní, nerozbitné při pádu i centrifugaci, dokonale průhledné 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 likvidovatelných (spalováním nebo drcením), zdravotně i ekologicky nezávadných plastických hmot.
- ❖ Systém je kompatibilní se všemi vakuovanými odběrovými systémy a pomocí adaptéru i s veškerou „klasickou“ odběrovou a infuzní technikou typu Luer.

3. 5 Příprava pacienta před vyšetřením, odběr vzorku


Příprava pacienta 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 speciální vyšetření je nutno dodržet speciální přípravu, která je uvedena u jednotlivých vyšetření (viz **kapitola 6**, Abecední seznam laboratorních vyšetření).

Hlavní chyby při odběrech krve

Postupně jsou zdůrazněny hlavní chyby při odběrech žilní krve:

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

- ❖ chyby při přípravě nemocného,
- ❖ chyby způsobené nesprávným použitím škrtidla při odběru,
- ❖ chyby vedoucí k hemolýze vzorku,
- ❖ chyby při adjustaci, skladování a transportu,
- ❖ chyby při identifikaci patientského 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 rána ordinujeme proto jen výjimečně, kde mimořádný výsledek může ovlivnit naléhavé diagnostické rozhodování,
- ❖ pokud příliš úzkostlivý pacient dlouho před odběrem ani nepil, jsou výsledky ovlivněny dehydratací.

Chyby způsobené nesprávným použitím škrtidla 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 přešla z erytrocytů do séra nebo plazmy nebo že zbarvení interferuje 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

Laboratorní příručka	 <small>Ústav hematologie a krevní transfuze</small>
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

- ❖ 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 teple, přímému slunečnímu světlu, nebo mrazu.

Vliv infuzní terapie – odběr nejdříve hodinu po infuzi

- ❖ Kontaminace infuzí, kdy 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 heparinovým zámkem katétru pro opakované odběry nebo přítomnost anastomóz v žilním řečišti. V případě použití heparinového zámků je i po jeho odstranění ovlivněno vyšetření koagulace. Kontaminace infuzí se dále projeví atypickým, často několikanásobným zvýšením těch analytů, které byly v infuzi ve vysoké koncentraci.

Tyto problémy se rovněž týkají koagulačních vyšetření. Pro prevenci těchto obtíží je jediným bezpečným způsobem odběr žilní krve z opačné končetiny, než je zaveden katétre infuze.

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 potencionálně 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 a podobně).

Prevence hematomu zahrnuje zejména


- ❖ punkce pouze horní žilní stěny s jistotou, že jehla jen touto stěnou úplně pronikla

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

- ❖ včasné odstranění turniketu (zejména před odstraněním jehly ze žíly)
- ❖ používání 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, psychiatričtí 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 (škrtdla), smí však být aplikován maximálně 1 minutu. 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, například 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 palpace 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 se vakuum ve zkumavce zrušilo. 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.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

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.

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).

Pokud se odebírá pouze krev na vyšetření koagulace (obvykle citrátové zkumavky), odebere se nejprve 5 ml krve (tato krev se nepoužije), a teprve potom lze naplnit zkumavku na hemokoagulační vyšetření. Zabrání se tak kontaminaci vzorku tromboplastinem z místa odběru.


- ❖ 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 například diabetikům léčeným insulinem (včetně možnosti aplikace dávky a požití snídaně).

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

3. 6 Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku

Nezbytnou identifikaci biologického materiálu před přidělením laboratorního čísla (kódu) tvoří nejméně příjmení pacienta a číslo pojištěnce, jinak je nutné materiál odmítnout (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.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

3. 7 Množství vzorku

Podrobné údaje jsou uvedeny u každého analytu (viz [příloha č. 2](#)).

3. 8 Nezbytné operace se vzorkem, stabilita

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. Transport biologického materiálu z jednotlivých externích zařízení je prováděn tak, aby byly dodrženy požadavky na odběr primárních vzorků a časové limity pro stabilitu analytů.

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

Zkumavky s materiálem musí být zasílány uzavřené co nejdříve po odběru.

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).


3.9 Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Obecné zásady strategie bezpečnosti práce s biologickým materiálem vycházejí z příslušných právních předpisů a směrnic, tj. především z vyhlášky MZ ČR č. 195/2005 Sb. 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.

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 od pacientů s přenosným virovým onemocněním či multirezistentní nosokomiální nákazou mají být viditelně označeny.
- ❖ 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. Zároveň při rozdělávání žádanek kontroluje, zda neobsahují informaci o vysoké infekčnosti (např. HIV+, HbSAg+). V případě vysoce infekčního

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

materiálu zajistí vybraný pracovník zvláštní průchod vzorku laboratoří.

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, který se postará o desinfekci a vyčištění potrubní pošty. Laboratoř si od odesílatele vyžádá nový odběr i s patřičnou dokumentací.

4. 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.

4. 1 Příjem žádanek a vzorků

Příjem primárních vzorků na veškerá laboratorní vyšetření se provádí v laboratoři. Vzorek musí být správně odebraný, viditelně 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 – 14,00h


Vzorky se předávají vždy osobně pracovníkům laboratoře.

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.

4. 2 Kritéria pro přijetí nebo odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků


Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

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

Ve zvlášť výjimečných případech (např. z důvodu vitální indikace) lze vzorky potřísněné biologickým materiálem či vzorky s menším než doporučeným, množstvím materiálu vyšetřit. Pracovník přejímající takové vzorky o tomto neprodleně informuje ošetřujícího lékaře. Pouze na výslovnou žádost lékaře, který vyšetření požaduje, budou tyto vzorky vyšetřeny. Výše uvedené skutečnosti budou 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.

4. 3 Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky

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

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

<p>Není správně proveden odběr</p>	<p><i>materiál není přijat k dalšímu zpracování</i></p> <p>dané oddělení nebo ambulance je informováno a požádáno o nový odběr, zapíše se v LIS do komentáře. *</p>
<p>Žádanka není řádně vyplněná</p> <p><i>(schází některé povinné údaje (diagnóza, IČP ordinujícího lékaře, odbornost)</i></p>	<p><i>biologický materiál je přijat</i></p> <p>nesrovnalosti dořešeny laborantem telefonicky dříve, než je vydán výsledek</p>

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

5. VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ A KOMUNIKACE S LABORATOŘÍ

Veškerý materiál, který je dodán do laboratoře, se zpracovává nejlépe ihned (s přihlédnutím na pracovní postupy jednotlivých vyšetření). Výsledky jsou na klinických odděleních k dispozici, jakmile jsou elektronicky uvolněné do UNISu, ze kterého si je mohou vytisknout. Nejdéle následující pracovní den pak vyšetřující laboratoř sama dodá výsledky v tištěné podobě na oddělení zadavatele. V případě telefonického sdělení výsledku provede oprávněná osoba laboratoře záznam. Zaznamená čas, kdo výsledek ohlásil a komu byl výsledek ohlášen.

Uvolnění výsledků


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

5. 1 Hlášení výsledků v kritických intervalech

Výrazně patologické výsledky se neprodleně telefonují požadujícímu pracovišti bez ohledu na to, zda bylo vyšetření provedeno v režimu vitální indikace, statim nebo se jednalo o rutinní (běžný) vzorek. Pracovník laboratoře přesně zaznamená komu, kdy, kým a jak (telefonicky, přímým osobním sdělením) byl výsledek na oddělení předán (sdělen, nahlášen).

5. 2 Informace o formách vydávání výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv

Po provedení analýz jsou výsledky převedeny do LIS, kde jsou po kontrole odpovědným

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

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 a archivované v elektronické formě v systémech LIS/UNIS. Archivace žádank: podle směrnice č.7/ 2006 Spisového a skartačního řádu ÚHKT.

Výstup z LIS v podobě výsledkového listu obsahuje:

1. název laboratoře, která výsledek vydala,
2. jednoznačnou identifikaci pacienta (jméno, číslo pojištěnce),
3. jednoznačnou identifikaci lékaře požadujícího vyšetření,
4. datum a čas uvolnění výsledku,
5. nezaměnitelnou identifikaci vyšetření,
6. výsledek vyšetření včetně jednotek měření a tam, kde je to možné, rovněž fyziologické rozmezí,
7. identifikaci osoby, která výsledek vyhotovila, kontrolovala a uvolnila.

Vydávání výsledků přímo pacientům

Výdej výsledků pacientovi je možný na základě jeho žádosti. Personál vydávající výsledek musí mít jistotu v identifikaci nemocného. Nemá-li ji, pacient 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,

Laboratorní příručka	
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

- ❖ 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.


5. 3 Změny výsledků a nálezů

Změna identifikace pacienta <i>(jméno a příjmení pacienta, číslo pojištěnce)</i>	při zadávání žádanky do počítače - provede laborant
Oprava nebo změna čísla pojištěnce, sloučení špatně zadaného čísla pojištěnce se správným <i>(příjmení, titulu, pojišťovny)</i>	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.

5. 4 Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku

Intervaly se liší podle druhu požadavku, zda se jedná o rutinní nebo speciální požadavky. 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 čas uvolnění (je vytištěn na každém výsledkovém listu). Podrobné časové údaje k jednotlivým laboratorním položkám jsou uvedeny v dokumentu v **kapitole 6**, Abecední seznam laboratorních vyšetření.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

5. 5 Způsob řešení stížností

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. Vždy je nutné jednat s dostatečnou vstřícností.

Kromě drobných připomínek k práci laboratoře, které přijímá, okamžitě řeší a následně informuje svého nadřízeného kterýkoli pracovník laboratoře, je vyřizování stížností věcí vedoucího laboratoře.

5. 6 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.

6. ABECEDNÍ SEZNAM LABORATORNÍCH VYŠETŘENÍ

6.1. Spektrofotometrické stanovení volného hemoglobinu v plasmě Akreditovaná metoda 301_SOP_08_01

Žádanka: F_301_15_03 – Externí žádanka, F_301_15_04 – Interní žádanka

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: systém Vacutainer s protisrážlivou úpravou K₃EDTA, Citrát Na 1:10, Li heparin

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru. Materiál musí být zpracován do 6 hodin po odběru.

Hodnocení:


<i>Parametr</i>	<i>[mg/l]</i>
fyziologické rozmezí volného hemoglobinu	<100

Omezení a interference: v pracovní dny od 8–14 hodin

Dostupnost: do 24 hodin

Popis metody:

Diagnostický přínos tohoto vyšetření je patrný zejména u hemolytických anémií, při potransfúzních komplikacích, po transplantaci kostní dřeně, při operacích srdce a v transfuzologii při kontrole stavu skladované krve. Vedle volného hemoglobinu lze zároveň stanovit i bilirubin. Námi používaná metoda umožňuje stanovit nízké, nicméně již patologické koncentrace hemoglobinu v plazmě.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

6.2. Speciální vyšetření

8-methoxypsoralen (8-MOP)

Vyšetřovaný materiál: vzorek lymfocytů a monocytů

Odběr: separátor krevních buněk

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován do 24 hodin od odběru, musí být udržován v chladu a temnu.

Hodnocení:

<i>Parametr</i>	<i>8-MOP [ng/ml]</i>
vzorek	0
vzorek po podání 8-MOP	170-250
vzorek + 8-MOP po ozáření	170-250

Omezení a interference: v pracovní dny od 8–15 hodin

Dostupnost: do 3 měsíců

Popis metody:


Léčebná metoda extrakorporální fotochemoterapie (fotoferéza) je postup, který se zavádí do terapie chronické nemoci štěpu proti hostiteli (GVHD), která je nejčastější a nejzávažnější komplikací po transplantaci kostní dřeně nebo kmenových krvetvorných buněk z periferní nebo pupečnickové krve. Nejčastější klinické projevy spočívají ve vzniku sklerotických a atrofických kožních změn, v kloubních bolestech s omezením hybnosti kloubů, v bolestivém postižení sliznice dutiny ústní a s pocitem sucha v ústech. Praktické provedení metody spočívá nejprve v odběru lymfocytů a monocytů z krve nemocného pomocí separátoru krevních buněk. K těmto buňkám se přidá ve velmi malé dávce fotosenzibilující látka 8-metoxypsoralen a poté se buňky ozáří ultrafialovým zářením A. Po této přípravě se bílé krvinky podávají jako autotransfuze zpět do krevního oběhu nemocného. Účinek 8-MOP a UVA vyvolá v bílých krvinkách změny, při nichž dochází k zástavě dělení těchto buněk. Po opakovaných transfuzích takto pozměněných krevních buněk dochází u nemocných k potlačení onemocnění chronickou GVHD, zvláště ke zlepšení kožních, kloubních a slizničních změn. V průběhu léčby jsou odebírány vzorky pro laboratorní vyšetření.

Busulfan

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: systém Vacutainer s protisrážlivou úpravou K3-EDTA

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

Hodnocení:

<i>Parametr</i>	<i>[$\mu\text{mol.l}^{-1}.\text{min}$]</i>
Plocha pod křivkou - AUC	900 - 1500

Omezení a interference: v pracovní dny od 8–15 hodin

Dostupnost: do 3 měsíců

Popis metody:

Účinná látka Busulfan patří do skupiny alkylační cytostatika. Jeho mechanismem účinku je alkylace DNA, což vede k jejímu poškození. Buňka s poškozenou DNA se nemůže dělit a umírá. Je indikován pro použití u chronické myeloidní leukémie (CML), pravé polycytémie, u léčby před transplantací kmenových krvetvorných buněk a u primární trombocytémie a myelofibrózy.

K analýze je odebráno celkem 5 vzorků: vzorek před podáním busulfanu v 8:45 a další vzorky v 11:00, 12:00, 13:00, 14:50. Ve vzorcích je stanovena koncentrace busulfanu pomocí LC-MS/MS. Je sestrojena křivka závislosti koncentrace busulfanu na době odběru od 0 do 365 min. Výsledkem měření je plocha pod křivkou, tzv. AUC křivka (area under curve).

Dysfibrinogenemie

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: systém Vacutainer s protisrážlivou úpravou Citrát Na 1:10

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru, materiál musí být zpracován do 24 hodin po odběru. Zmražená plasma musí být transportována do 72 hodin.

Hodnocení:

<i>Parametr</i>	
Mutace v <i>FGA</i>	ano/ne
Mutace v <i>FGB</i>	ano/ne
Mutace v <i>FGG</i>	ano/ne


Omezení a interference: v pracovní dny (pondělí–čtvrtek) 8–15 hodin

Dostupnost: do 3 měsíců

Poznámka: Spolu se vzorkem musí být doručen i výsledek koagulačního vyšetření.

Popis metody:

Metoda je založena na genetickém vyšetření exonů genů *FGA*, *FGB* a *FGG*. U normálního vzorku není přítomna žádná mutace ani v jednom z genů. Vyšetření není diagnostického typu, ale je součástí základního výzkumu na oddělení biochemie ÚHKT.

Laboratorní příručka	
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

Známe polymorfismy: FGA: exon 1: 2297 A/G; exon 5: 6534 A/G, 6909 A/G; exon 6: 8834 C/T. FGB: exon 2: 4872 C/T; exon 4: 6491 A/C, 6550 C/T; exon 5: 7337 C/T; exon 6: 8072 G/T; exon 8: 9487 G/A. FGG: exon 5: 3977 T/C; exon 6: 4433 G/A.

Dále je vyšetřována polymerace fibrinu, kinetika odštěpování fibrinopeptidů, klotabilita, fibrinolýza, morfologie klotu pomocí skenovací elektronové mikroskopie, základní proteomická studie abnormálních fibrinogenů – SDS PAGE, imunoblot, hmotnostní spektrometrie.

Heparin indukovaná trombocytopenie (HIT)

Informovaný souhlas: F_301_15_02

Vyšetřovaný materiál: sérum

Odběr: systém Vacutainer

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru, do 1 hodiny od odběru udržován při 18-24 °C a více jak 1 hodinu od odběru udržován v chladu. Materiál musí být zpracován do 24 hodin po odběru.

Hodnocení:

<i>Parametr</i>	<i>% uvolněného 5-HT</i>
0,1 IU/ml heparin	> 35
100 IU/ml heparin	<15

Omezení a interference: v pracovní dny od 8–15 hodin


Dostupnost: do 2 měsíců

Popis metody:

HIT vzniká asi u 5 % pacientů, kterým byl podán nefrakcionovaný heparin, pro nízkomolekulární heparin je to signifikantně méně. Trombocytopenie je zprostředkována IgG protilátkami proti komplexu heparin-destičkový faktor 4 (IgG-heparin-PF4). IgG-heparin-PF4 interaguje s Fc receptorem destiček, což vede k jejich aktivaci, uvolňovací reakci. Pro stanovení HIT používáme metodu uvolňování serotoninu (SRA) z promytých destiček. Metoda probíhá dvoubodově, při dvou koncentracích heparinu. Je známo, že k aktivaci destiček HIT-sérem dochází za konečných koncentrací heparinu kolem 0.1 U/ml (LH), zatímco při koncentracích 100 U/ml (HH) je aktivace potlačena díky rozpadu imunokomplexu, a tak je možno vyloučit aktivaci nespecifickou. Pro kontrolu spontánního uvolňování serotoninu (negativní kontrola) používáme místo séra Tyrodový pufr. Pro zjištění maximálního množství uvolnitelného serotoninu (pozitivní kontrola) používáme aktivaci destiček peptidem aktivujícím destičkový trombinový receptor (TRAP).

Itrakonazol (Itra)

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

Odběr: systém Vacutainer s protisrážlivou úpravou K3-EDTA

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru. Materiál musí být zpracován do 6 hodin po odběru.

Hodnocení:

<i>Parametr</i>	<i>[ng/ml]</i>
Itrakonazol	> 500

Omezení a interference: v pracovní dny od 8–15 hodin

Dostupnost: do 10 dní

Popis metody:

Invazivní plísňové infekce jsou často velmi závažná onemocnění vyskytující se u pacientů podrobených myelosupresivní chemoterapii při akutní leukemii, a ještě častěji u allogenně transplantovaných pacientů. Hojně používaným antimykotikem je itraconazol (Itra), který se vzhledem ke své antiaspergilové aktivitě při kontrolovaném dávkování považuje za dobrý profylaktický preparát. Rovněž jeden z jeho metabolických produktů – hydroxyitraconazol (HO-Itra) je biologicky aktivní. Pro dosažení optimálního profylaktického účinku Itra by jeho koncentrace v plazmě měla činit minimálně 500 ng/ml. Rovněž vzhledem k možným interakcím s podávanými léčivými by mělo být dávkování Itra kontrolováno sledováním jeho hladiny v plazmě pacientů. Itra stanovujeme pomocí HPLC s fluorimetrickou detekcí.

Malondialdehyd (MDA)

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: systém Vacutainer s protisrážlivou úpravou K3-EDTA

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru. Materiál musí být zpracován do 4 hodin po odběru.

Hodnocení:


<i>Parametr</i>	<i>[μmol/l]</i>
fyziologické rozmezí MDA	0,13 - 0,63

Omezení a interference: v pracovní dny od 8–15 hodin

Dostupnost: do 7 dní

Popis metody:

Přítomnost oxidačního stresu v organismu signalizuje zvýšená hladina malondialdehydu, produktu peroxidace lipidů. Oxidační stres vzniká posunutím rovnováhy oxidačních a antioxidačních systémů v organismu ve prospěch oxidačních a vede k závažnému poškození

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

buněk. Hlavní úlohu zde hrají volné radikály (VR), které iniciují oxidační stres a přispívají k oxidaci lipidů, bílkovin, sacharidů a nukleových kyselin. Na druhou stranu mají VR důležitou roli v regulaci buněčných funkcí, jsou meziprodukty několika enzymatických reakcí a účastní se posttranslačních modifikací bílkovin. Zvýšená hladina malondialdehydu byla naměřena u pacientů přetížených železem, u pacientů trpících chronickou renální ischemií nebo mnohočetným myelomem. VR souvisí i se vznikem aterosklerosy, infarktu myokardu. S oxidačním stresem bývá spojováno i stárnutí.

Glivec

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev

Odběr: systém Vacutainer s protisrážlivou úpravou K3-EDTA

Manipulace s materiálem (transport): do laboratoře musí být vzorek transportován v den odběru. Materiál musí být zpracován do 6 hodin po odběru.

Hodnocení:

<i>Parametr</i>	<i>[ng/ml]</i>
Imatinib a Desmethylimatinib (IM) Dasatinib, Nilotinib, Ponatinib	> 1000

Omezení a interference: v pracovní dny od 8–15 hodin

Dostupnost: do 10 dní

Popis metody:


Glivec je farmaceutický přípravek pro léčbu celé řady hematologických onemocnění. Je lékem první volby v léčbě chronické fáze chronické myeloidní leukémie (CML). Léčivou látkou Glivecu je *imatinibi mesylas*. Je selektivním inhibítozem tyrosinkinasy BCR-ABL. Podáváním dávky 400mg/den se dosahuje účinných léčebných odpovědí s vysokým procentem přežití. Měření celkové plazmatické koncentrace účinných derivátů (IM) *imatinibi mesylas* (imatinibu a desmethylimatinibu) ukázala možný přínos pro optimalizaci léčby. Spektrum účinných látek bylo rošířeno o Dasatinib, Nilotinib, Ponatinib, které též stanovujeme. Koncentrace IM v plasmě koreluje s dosažením molekulárních odpovědí. Pacienti s plasmatickou koncentrací IM $\geq 1\ 000$ ng/ml dosahují vysoké molekulární odpovědi mnohem rychleji než pacienti s koncentrací IM $< 1\ 000$ ng/ml. Stanovení provádíme metodou HPLC s detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie.

Komentář k seznamu vyšetření

Vyšetřovaný materiál: biologický materiál, ze kterého se vyšetření provádí

Odběr: údaj o odběrovém systému Vacutainer,

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

Laboratorní příručka	
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

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



Příloha č. 1


Tabulka odběrového systému




1. Uzavřený systém – firma SARSTEDT

	<i>OBJEM</i>	<i>PŘÍSLUŠENSTVÍ</i>	<i>POUŽITÍ</i>
Zkumavka s bílým uzávěrem 	5,5 ml 7,5 ml krve	Zkumavka s aktivátorem srážení vč. granulátu	Biochemická vyšetření
Zkumavka s červenou zátkou 	2,7 ml krve	Zkumavka s K ₃ EDTA	Hematologické testy. Vyšetření z nesrážlivé krve
Zkumavka se zelenou zátkou 	3 ml 5 ml krve	Zkumavka s Na citrát 3,13 % (1:10)	Koagulační testy
Zkumavka s oranžovou zátkou 	3 ml 7,5 ml krve	Zkumavka s Li heparin	Hematologické testy
Zkumavka s fialovou zátkou 	1 ml krve	Zkumavka s Na citrát 3,8 %, sedimentační kalibrovaná kapilára	Sedimentace

2. Uzavřený systém – firma VACUETTE

	<i>OBJEM</i>	<i>PŘÍSLUŠENSTVÍ</i>	<i>POUŽITÍ</i>
Zkumavka s červeným Uzávěrem 	5,5 ml 7,5 ml krve	Zkumavka s aktivátorem srážení vč. granulátu	Biochemická vyšetření
Zkumavka s fialovou zátkou 	2,7 ml krve	Zkumavka s K ₃ EDTA	Hematologické testy. Vyšetření z nesrážlivé krve






Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1


Zkumavka s modrou zátkou 	3 ml 5 ml krve	Zkumavka s Na citrát 3,13 % (1:10)	Koagulační testy
Zkumavka se zelenou zátkou 	3 ml 7,5 ml krve	Zkumavka s Li heparin	Hematologické testy
Zkumavka s šedou zátkou 	1 ml krve	Zkumavka s Na citrát 3,8 %, sedimentační kalibrovaná kapilára	Sedimentace





Příloha č. 2

Minimální množství vzorku na jednotlivá vyšetření oddělení biochemie



Vyšetření	Druh zkumavky	Důvod vyšetření
8-MOP	 5,5ml aktivátor srážení	GVHD
Dysfibrinogenemie	 5 ml Citrát Na 1:10	Dysfibrinogenemie
HIT	 5,5ml aktivátor srážení	Trombocytopenie
Itrakonazol	 2,7 ml K ₃ EDTA	Invazivní plísňové infekce
Malondialdehyd	 2,7 ml K ₃ EDTA	Oxidační stres

Laboratorní příručka	
Oddělení biochemie Nahrazuje stranu: Ze dne:	301_LP_20_01 Verze: A1

Volný hemoglobin	 2,7 ml K ₃ EDTA  3 ml Citrát Na 1:10  3 ml Li heparin	Hemolytické anémie
Glivec	 2,7 ml K ₃ EDTA	Hemotoonkologické onemocnění

Příloha č. 3 informovaný souhlas pacienta

Příloha č. 4 externí žádanka oddělení biochemie – vedena jako samostatný formulář

Příloha č. 5 interní žádanka oddělení biochemie – vedena jako samostatný formulář

Rozdělovník

Číslo výtisku	Jméno
1.	Ing, Jana Štikarová PhD.
2.	Web ÚHKT elektronicky