

Zpracovatel:	Ing. Jana Štikarová, Ph.D.		
Přezkoumal a schválil:	Ing. Jiří Suttnar, CSc.		
Garant dokumentu:	Ing. K. Svobodová		
Platnost od:	23.5.2024		Hana Feixová
Výtisk č:	2	Počet stran:	27
Verze:	A4	Přijato do evidence:	23.5.2024

## SEZNAM ZMĚN A REVIZÍ ŘÍZENÉHO DOKUMENTU

Platnost od:	Verze	Obsah změny/ revize	Schválení revize
01.02.2021	A1	Změna vedoucího oddělení, změna loga	Svobodová
10.06.2022	A1	Beze změn	Svobodová
31.05.2023	A2	Změna provozní doby a příjmu vzorku, úprava textu	Svobodová
23.08.2023	A3	Úprava obsahu zaměření laboratoře, přidání metody stanovení imunosupresiv	Hlaváčková
23.05.2024	A4	Zpracování nové laboratorní metody, úprava počtu zaměstnanců	Svobodová

## 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](http://www.uhkt.cz), kde je pravidelně aktualizována.

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

Kolektiv Oddělení biochemie

## INFORMACE O LABORATOŘI

### Identifikace laboratoře, důležité údaje

ÚHKT Oddělení biochemie

Adresa: U Nemocnice 2094/1, 128 00, Praha 2

Telefonní spojení: 221977250

Webová stránka: [www.uhkt.cz](http://www.uhkt.cz)

Vedoucí oddělení: Ing. Jiří Suttnar, CSc.

Manažer kvality: Hana Feixová

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

E-mail: [jiri.suttnar@uhkt.cz](mailto:jiri.suttnar@uhkt.cz)

Provozní doba: po – pá 8:00 – 16:00

Příjem vzorků: po – pá 8:00 – 15:00

### 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 akreditována ČIA pod č. 8081 dle ČSN EN ISO 15189**

### Zaměření laboratoře

Oddělení biochemie se v rámci výzkumu zabývá změnami ve složení a funkci nízkomolekulárních a vysokomolekulárních látek obsažených v krvi, ke kterým dochází u onkohematologických onemocnění, u poruch hemostázy a u trombózy např. v rámci kardiovaskulárních onemocnění. Metodicky využíváme nové přístupy ke studiu onemocnění v podobě spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) pro metabolomiku a proteomiku. Sledujeme vztahy mezi jednotlivými složkami koagulační kaskády, od sledování aktivit serinových proteáz podílejících se na vzniku fibrinové sítě, struktury vzniklé sítě, až po fibrinolýzu. Ke studiu používáme nejen obvyklé koagulační metody, ale i nové přístupy v podobě hmotnostní spektrometrie či elektronové mikroskopie a metod strukturní biologie. Získané poznatky jsou aplikovány ve vývoji nových diagnostických přístupů u koagulopatií (např. hluboká žilní trombóza, plicní embolie, infarkt myokardu, trombotické komplikace při COVID-19).

U pacientů se suspektní dysfibrinogenemií a hypofibrinogenemií z celé ČR vyšetřujeme všechny exony genů kódující fibrinogen (FGA, FGB a FGG). V případě nálezu mutace zkoumáme její vliv na změnu struktury a funkce fibrinogenu pomocí specializovaných vyšetření (polymerační křivky, kvantifikace odštěpování fibrinopeptidů pomocí HPLC, SEM, LC-MS/MS, strukturní modelování).

Metodicky využíváme nové přístupy ke studiu onemocnění v podobě spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) pro metabolomiku a proteomiku. Pomocí spojení kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) se zabýváme cílenou analýzou nízkomolekulárních látek. Konkrétně studujeme změny v koncentracích metabolitů glykolýzy, citrátového cyklu, energetického poolu, metabolismu karnitinu, tryptofanu a vybraných aminokyselin. Dále se zabýváme monitorováním markerů oxidačního stresu (malondialdehydu, kyseliny močové, allantoinu, atd.).

Ve spolupráci s ústavem fotoniky a elektroniky AV ČR se zabýváme vývojem proteinových čipů. Cílem práce je navrhnout diagnostickou SPR metodu a proteinový čip k přesnější stratifikaci podskupin onkohematologického či jiného onemocnění. Pomocí proteinového (mikro) čipu analyzujeme interakce mezi proteiny spojenými s patogenezí daného onemocnění a plazmatickým proteomem pacientů, interagující proteiny jsou identifikovány s využitím LC-MS/MS.

Dále využíváme 3D zobrazení, sledování interakcí v reálném čase a teoretické metody strukturní biologie, jako je molekulární modelování a molekulární dynamika. V rámci rutinních vyšetření oddělení nabízí spektrofotometrické stanovení volného hemoglobinu v plazmě (akreditovaná metoda), SRA test pro stanovení heparinem indukované trombocytopenie (HIT), genetické a funkční vyšetření fibrinogenu, a monitorování hladin léčiv (TDM, Therapeutic Drug Monitoring) metodou LC-MS/MS pro stanovení 8-metoxypsoralenu (8-MOP), busulfanu, inhibitorů tyrozinových kináz (TKI), a nově i antitykotik (posakonazol, vorikonazol, isavukonazol) a imunosupresiv (cyklosporin A, tacrolimus, sirolimus).

### Organizace laboratoře, vnitřní členění

Počet pracovníků a jejich odborná způsobilost

Lékaři: 1

VŠ ostatní: 7

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.

### Spektrum nabízených služeb

Akreditovaná vyšetření:

- Laboratoř provádí stanovení volného hemoglobinu v plasmě.

Speciální vyšetření

- Laboratoř provádí stanovení hladin busulfanu, antitykotik, TKI, 8-metoxypsoralenu, imunosupresiv, podílí se na diagnostice heparin indukované trombocytopenie, disfibrinogenémie.

Běžná vyšetření jsou prováděna denně. Speciální vyšetření pouze po předchozím objednání. Podrobnější informace o provedení a vyhodnocení těchto testů najdete v **kapitole** Seznam laboratorních vyšetření. Informovaný souhlas pro pacienty najdete v [příloze č 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](http://www.uhkt.cz) nebo papírové podobě u vedoucích laboratoří. Rozsah vyšetření prováděných v laboratořích klinického úseku je průběžně aktualizován, v souladu s rozvojem medicínských znalostí a formou nabídky laboratorních vyšetření dávána na vědomí svým klinickým partnerům (lůžkovým i ambulantním zařízením), spolu s požadavky na způsob odběru biologického materiálu.

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

### Základní informace

Základní informace o odběrech primárních vzorků na jednotlivá vyšetření viz **kapitola** 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.

### 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 žádance:

- 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:

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, 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](http://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.

#### Samoplátcí:

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.

#### 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 přibojednaným 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** Seznam laboratorních vyšetření.

#### Používaný odběrový systém

U jednotlivých analytů jsou uvedeny vhodné druhy odběrového materiálu (média 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.

### 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 Seznam laboratorních vyšetření**).

#### Hlavní chyby při odběrech krve

Postupně jsou zdůrazněny hlavní chyby při odběrech žilní krve

1. chyby při přípravě nemocného,
2. chyby způsobené nesprávným použitím škrtidla při odběru,
3. chyby vedoucí k hemolýze vzorku,
4. chyby při adjustaci, skladování a transportu,
5. chyby při identifikaci patientského vzorku.

#### Chyby při přípravě nemocného

- pacient nebyl nalačno, požití tuky způsobí přítomnost chylomiker 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 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 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
- 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 je možné provést 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 zámku 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 katétr 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
- 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 (škrtidla), 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.

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 nepřípustné.

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.

#### 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.

#### Množství vzorku

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

#### 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).

### 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 rozdělování žádanek kontroluje, zda neobsahují informaci o vysoké infekčnosti (např. HIV+, HbSAg+). V případě vysoce infekčního 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 dezinfekci a vyčištění potrubní pošty. Laboratoř si od odesílatele vyžádá nový odběr i s patřičnou dokumentací.

### 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, 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: 8,00 – 15,00h

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

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.

#### Kritéria pro přijetí nebo odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků

**Nesoulad v základních identifikačních znacích pro  
přidělení žádanky ke**

**vzorku biologického materiálu**

*(jméno a příjmení pacienta, číslo pojištěnce)*

***materiál není přijat k dalšímu zpracování.***

**Je porušen obal**

*(část materiálu vytekla při transportu apod.)*

***materiál není přijat k dalšímu zpracování***

**Není správně proveden odběr**

***materiál není přijat k dalšímu zpracování***

**Žádanka není řádně vyplněná**

*(schází některé povinné údaje (diagnóza,  
IČP ordinujícího lékaře, odbornost)*

***biologický materiál je přijat***

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

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

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.

### Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky

<p><b>Nesoulad v základních identifikačních znacích pro přidělení žádanky ke vzorku biologického materiálu</b> (jméno a příjmení pacienta, číslo pojištěnce)</p>	<p><b><i>materiál není přijat dalšímu zpracování.</i></b></p>
<p><b>Je porušen obal</b></p>	<p>dané oddělení nebo ambulance je informováno a požádáno o nový odběr, zapíše se v LIS do komentáře. *</p>
<p>(část materiálu vytekla při transportu apod.)</p>	<p><b><i>materiál není přijat k dalšímu zpracování</i></b></p>
<p><b>Není správně proveden odběr</b></p>	<p>dané oddělení nebo ambulance je informováno a požádáno o nový odběr, zapíše se v LIS do komentáře. *</p>
<p><b>Žádanka není řádně vyplněná</b></p>	<p><b><i>materiál není přijat k dalšímu zpracování</i></b></p>
<p>(schází některé povinné údaje (diagnóza, IČP ordinujícího lékaře, odbornost)</p>	<p>dané oddělení nebo ambulance je informováno a požádáno o nový odběr, zapíše se v LIS do komentáře. *</p>
	<p><b><i>biologický materiál je přijat</i></b></p>
	<p>nesrovnalosti dořešeny laborantem telefonicky dříve, než je vydán výsledek</p>

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

## 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.

### 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).

### 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 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 pojištění),
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.

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

### 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,
- 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.

### ZMĚNY VÝSLEDKŮ A NÁLEZŮ

<b>Změna identifikace pacienta</b> <i>(jméno a příjmení pacienta, číslo pojištěnce)</i>	<b>při zadávání žádanky do počítače</b> <b>- provede laborant</b>
	<b>provede po nahlášení správce</b> <b>počítačové sítě</b>



**Oprava nebo změna čísla pojištěnce, sloučení  
špatně zadaného čísla pojištěnce se  
správným**

*(příjmení, titulu, pojišťovny)*

**Oprava výsledků (nálezu)**

**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, 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 Seznam laboratorních vyšetření.

## 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.

## 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.

## SEZNAM LABORATORNÍCH VYŠETŘENÍ

### Spektrofotometrické stanovení volného hemoglobinu v plasmě

#### Akreditovaná metoda 301\_SOP\_08\_01

**Žádanka:** F\_301\_15\_03 – Externí žádanka,

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev

**Odběr:** systém Vacutainer s protisrážlivou úpravou K<sub>3</sub>EDTA, 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 plasmě.

#### Speciální vyšetření

##### Stanovení 8-methoxy-psoralenu (8-MOP) metodou LC-MS/MS

**Vyšetřovaný materiál:** vzorek lymfocytů a monocytů

**Odběr:** separátor krevních buněk

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

**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.

**Stanovení busulfanu metodou LC-MS/MS**

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev

**Odběr:** systém Vacutainer s protisrážlivou úpravou K3-EDTA

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

LABORATORNÍ PŘÍRUČKA	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ BIOCHEMIE	301_LP_20_01

Hodnocení:

<i>Parametr</i>	<i>[<math>\mu</math>mol/l.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 FGA	ano/ne
Mutace v FGB	ano/ne
Mutace v FGG	ano/ne

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

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

**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 ÚHKU.

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>
<b>Rozdíl LH a HH</b>	<b>&gt; 20</b>

**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. Thrombocytopenie 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

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

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).

### Stanovení aktivity asparaginasy

**Vyšetřovaný materiál:** sérum

**Odběr:** systém Vacutainer

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

### Hodnocení:

Parametr	U/I
Aktivita asparaginasy	> 100

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

**Dostupnost:** do 2 dnů

### Popis metody:

Akutní lymfoblastická leukemie (ALL) je maligní klonální onemocnění krvetvorby. U dospělých se toto onemocnění řadí mezi relativně vzácné malignity, ale terapie je složitější než u dětí a relaps postihuje až polovinu pacientů. Léčba ALL spočívá v kombinované chemoterapii, jejíž důležitou součástí je L-asparaginasa. Asparaginasa katalyzuje hydrolýzu extracelulárního asparaginu na aspartát a amoniak. Leukemické buňky na rozdíl od normálních buněk nejsou schopné asparagin syntetizovat v dostatečném množství a jsou tedy závislé na jeho exogenním přísunu. Cytotoxický účinek Asparaginasy spočívá v nadměrné hydrolýze asparaginu, což vede k poškození proteosyntézy a následné apoptóze leukemických buněk. Metoda stanovení aktivity asparaginasy je založena na hydrolýze  $\beta$ -hydroxamátu kyseliny L-asparagové. Touto reakcí vzniká kyselina L-asparagová a hydroxylamin, který dále reaguje s 8-hydroxychinolinem za vzniku barevného produktu indooxinu. Absorbance vzniklého barevného produktu je měřena při 710 nm.

**Stanovení antimykotik metodou LC-MS/MS****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 12 hodin po odběru, musí být udržován v chladu.**Hodnocení:**

<i>Parametr</i>	<i>[µg/l]</i>
Vorikonazol	2000-6000
Posakonazol	> 700
Isavukonazol	NA

**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 leukémii, a ještě častěji u alogenně transplantovaných pacientů. Hojně používaným antimykotikem je itrakonazol, který se vzhledem ke své antiaspergillové aktivitě při kontrolovaném dávkování považuje za dobrý profylaktický preparát. Rovněž jeden z jeho metabolických produktů hydroxyitrakonazol je biologicky aktivní. V posledních letech rozšířily paletu triazolových antimykotik nové preparáty 2. generace, vorikonazol (analog flukonazolu), posakonazol (analog itrakonazolu) a isavokonazol.

Vzhledem k možným interakcím s podávanými léčivými by mělo být dávkování antimykotik kontrolováno sledováním jeho hladiny v plazmě pacientů. Antimykotika stanovujeme pomocí LC-MS/MS.

**Stanovení tyrozinkinázových inhibitorů (TKI) metodou LC-MS/MS****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>
<b>Imatinib a Norimatinib (IM)</b>	<b>&gt; 1000</b>
<b>Dasatinib</b>	<b>&gt; 2,5</b>
<b>Nilotinib</b>	<b>&gt; 800</b>

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

**Dostupnost:** do 10 dní

**Popis metody:**

TKI jsou vhodná pro léčbu celé řady hematologických onemocnění. Glivec je lékem první volby v léčbě chronické fáze chronické myeloidní leukémie (CML). Léčivou látkou Glivecu je *imatinibi mesylas*. Je selektivním inhibitorem tyrosinkinasy BCR-ABL. Podáváním dávky 400 mg/den se dosahuje účinných léčebných odpovědí s vysokým procentem přežití. Měření celkové plazmatické koncentrace účinných derivátů (IM) *imatinibi mesylas* (imatinibu a norimatinibu) 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.

**Stanovení imunosupresiv metodou LC-MS/MS**

**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 12 hodin po odběru, musí být udržován v chladu.

**Hodnocení:**

<i>Parametr</i>	<i>[<math>\mu</math>g/l]</i>
<b>Cyklosporin A</b>	<b>80 - 250</b>
<b>Tacrolimus</b>	<b>5 - 20</b>
<b>Sirolimus</b>	<b>4-20</b>

**Omezení a interference:** v pracovní dny od 8–15 hodin, **příjem vzorku 8-12 hodin**

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



**Dostupnost:** do 5 dní

**Popis metody:**

Imunosupresiva jsou léky ze skupiny ATC L04, které omezují nebo zabraňují činnosti imunitního systému. Imunosupresivní léčba se zahajuje, aby se zabránilo odmítnutí transplantovaných orgánů a tkání (například kostní dřeně). Léčba imunosupresivy není bez vedlejších účinků a rizik. Většina imunosupresiv působí neselektivně a imunitní systém pak není schopen plně odolávat infekcím a dalšímu šíření nádorových buněk. Skupina ATC L04 zahrnuje kromě selektivních imunosupresiv (sirolimus a everolimus), inhibitory tumor nekrotizujícího faktoru alfa, inhibitory interleukinu, inhibitory kalcineurinu a další. Mezi inhibitory kalcineurinu patří cyklosporin A a tacrolimus. 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




**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**

	OBJEM	PŘÍSLUŠENSTVÍ	POUŽITÍ
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 <sub>3</sub> 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

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

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

		OBJEM	PŘÍSLUŠENSTVÍ	POUŽITÍ
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 <sub>3</sub> EDTA	Hematologické testy. Vyšetření z nesrážlivé krve
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
Antimykotika	 2,7 ml K <sub>3</sub> EDTA	Invazivní plísňové infekce
Malondialdehyd	 2,7 ml K <sub>3</sub> EDTA	Oxidační stres
Volný hemoglobin	 2,7 ml K <sub>3</sub> EDTA	Hemolytické anémie
	 3 ml Citrát Na 1:10	
	 3 ml Li heparin	
TKI	 2,7 ml K <sub>3</sub> EDTA	Hematoonkologické onemocnění

Imunosupresiva

2,7 ml K<sub>3</sub>EDTA

Imunosuprese

Příloha č. 3 externí žádanka oddělení biochemie – vedena jako samostatný formulář

**ROZDĚLOVNÍK**

Číslo výtisku	Uložení
1	Portál SMK
2.	WEB ÚHKT