

Odber krvi na biochemické vyšetrenia

Druh biologického materiálu

- Sérum - väčšina biochemických analytov
- Plná nezrážavá venózna krv – na vyšetrenie krvného obrazu
- Plazma – na hemokoagulačné vyšetrenie a niektoré špeciálne biochemické vyšetrenia

Odber venóznej krvi

Deň pred odberom krvi, a to popoludní a večer, by pacient nemal jesť mastné jedlá, pretože tuky v krvi môžu spôsobiť chylozitu séra. Chylózne sérum ovplyvňuje mnoho vyšetrení. Pacient sa môže pred odberom napiť nesladeného čaju.

U pacientov s dobre viditeľnými žilami je vhodné odberať krv z nezatahnutej paže. U tých pacientov, u ktorých nie je možné odobrať krv bez zatahnutia, ruku len krátko stiahneme a ihneď po vpichu uvoľníme, aby sa naberala voľne prúdiaca krv. Pred odberom nemá pacient rukou cvičiť. Odber z dlhšie stiahnutej ruky a s predchádzajúcim cvičením vadí pri mnohých vyšetreniach najviac však pri vyšetreniach minerálov (pri stanovení K⁺ môže jeho koncentrácia v sére narásť až o 30% !!!), kreatínkinázy – CK, izoenzymov laktátdehydrogenázy – LD a pod. Pokiaľ má pacient ťažko dostupné žily a odber sa nedá takto vykonať, je na to treba upozorniť lekára, aby mohol túto skutočnosť vziať do úvahy pri interpretácii výsledkov.

Krv je treba odberať najskôr hodinu po infúzii, inak nachádzame nižšiu koncentráciu stanovovaných parametrov v dôsledku zriedenia krvi infúznymi roztokmi. Pri odberoch v priebehu infúzie sa namerajú nezmyselne vysoké hodnoty, napr. glukózy, sodíka, draslíka a chloridov (podľa podávanej infúznej liečby).

Pri odbere treba rešpektovať skutočnosť, že mnohé súčasti krvnej plazmy majú iné hodnoty v stoji a iné hodnoty v ležiacej polohe. Pre vzájomnú porovnateľnosť výsledkov sa odporúča odberať krv po 10 minútach v sediacej polohe.

Odber krvi na stanovenie lipidov

Krv sa odoberá po 12-14 hodinovom hladovaní (posledná večera o 18:00 hod., nie príliš bohatá na tuky a pacient už nesmie piť alkohol). U ambulantných pacientov sa neodporúča robiť odber v pondelok, pretože cez víkend sa stravujú inak, než cez pracovné dni. Pacient nesmie pred odberom užívať lieky zasahujúce do metabolizmu lipidov.

Odber kapilárnej krvi sa robí vpichom do bruška prsta, ušného lalôčika, prípadne u malých detí do päty. Je dôležité, aby bolo miesto vpichu dobre prekrvené. Krv z miesta vpichu musí voľne vytekať. Prvá kvapka sa zotiera tampónom, pretože táto krv obsahuje prímes tkanivového moku. Voľne odkvapkávajúca krv sa potom zachytáva do mikroskúmavky. Možné chyby pri odbere kapilárnej krvi sú:

- nedostatočné prekrvenie miesta vpichu,
- nedostatočná hĺbka vpichu (krv nevyteká spontánne),
- vytlačanie krvi z miesta vpichu masážou (spôsobuje hemolýzu a mení zloženie krvi),
- striedanie miest vpichu.

Krv na stanovenie glykémie sa odoberá do umelohmotnej mikroskúmavky s prídavkom antikoagulačného činidla a fluoridu sodného. Pokiaľ skúmavka neobsahuje fluorid

sodný, musí byť glykémia vyšetrená do 1 hodiny, keďže prichádza ku glykolýze a hodnota glykémie sa znižuje.

Odberový materiál

Na odber venóznej krvi určenej na vyšetrenie parametrov zo séra sa používajú skúmavky so separačným gélom, ktorého úlohou je urýchľovať zrážanie krvi, stabilizovať bunkové zložky a tmiť proces hemolýzy.

Laboratórium na tento typ odberu odporúča nasledovné skúmavky:

1. Skúmavka so separačným gélom od firmy Sarstedt S-Monovette s objemom 7,5ml a 4,9ml - do týchto skúmaviek sa krv odoberá vákuovým systémom.
2. Skúmavka so separačným gélom od firmy Sarstedt s objemom 4,4ml - pri odbere krvi do tejto skúmavky je potrebné krv odoberať pomaly, aby nedošlo k poškodeniu buniek a k následnej hemolýze.
3. Skúmavka S-Monovette 4,9ml a 7,5 ml Li-Heparin
4. Skúmavka S- Monovette 4,9 ml a 7,5 ml K2EDTA
5. Skúmavka S-Monovette 4.3 ml Na-citrát (1:10)

Pri odbere krvi pre vyšetrenie zo séra je možné použiť aj skúmavky od iných výrobcov, vhodné na vyšetrenie parametrov zo séra alebo plazmy.

Množstvo krvi potrebnej na stanovenie parametrov ktoré vyžadujú nezrazenú krv je potrebné dodržať pomer plnej krvi a protizrážavého činidla. Ak sa použije vákuový systém, správny objem sa zabezpečí automaticky. Ak sa odoberá krv do otvoreného systému, krv sa odoberá po rysku na odberovej skúmavke. Na stanovenie základných biochemických parametrov stačí jedna plná skúmavka krvi s objemom 4,4ml resp. 4,9ml. Pri rozšírenom súbore vyšetrení (špeciálne vyšetrenia) je potrebná plná skúmavka krvi s objemom 7,5ml.

U malých detí, alebo u dospelých so sťaženým odberom krvi sa môže odobrať aj menší objem krvi a ordinujúci lekár určí poradie dôležitosti stanovenia parametrov v prípade nedostatočného objemu.

Laboratórium neposkytuje odberový materiál!

Po odbere sa krv v skúmavke nechá stať pri laboratórnej teplote (cca 22°C) 30 minút.

Proces zrážania krvi sa začína ihneď po odbere a trvá približne 10-15 minút. Tvorba séra začína po 30-tich minútach. Rozpadom erytrocytov sa do séra uvoľňujú rôzne látky (napr. kálium) a rozdiely v koncentrácii týchto látok medzi sérom a krvinkami sa časom vyrovnávajú, preto je nutné krv čím skôr scentrifugovať a oddeliť sérum od krvného koláča. Krv by mala byť scentrifugovaná do 1 hodiny a sérum uložené v chlade.

Parametre vyšetrené z nezrážanlivej krvi

Ak je na vyšetrenie potrebná nezrážanlivá krv (napr. na vyšetrenie krvného obrazu, koagulačných vyšetrení a pod.), odber treba vykonať do skúmavky s antikoagulačným činidlom. Pre konkrétnu analýzu je vždy treba zvoliť vhodné antikoagulačné činidlo. Pri tomto type odberov je potrebné krv odobrať po rysku na skúmavke. Vzorku po odbere dôkladne premiešame a až do transportu uchováваме pri izbovej teplote.

Hemokoagulačné vyšetrenia

Krv je potrebné odobrať do skúmavky s citrátom. Pacienti by pred hemokoagulačným vyšetrením nemali jesť tučnú stravu. Dlhé a nešetrné škrtenie vedie k rozpadu erytrocytov, hypoxii tkanív a k aktivácii koagulačných faktorov. Zle napichnutá žila môže spôsobiť hemolýzu a prímes tkanivového faktora, ktorý ako silný aktivátor koagulácie skresľuje výsledné hodnoty a môže viesť až k zrazeniu vzorky. Nedodržanie pomeru odobratej krvi a antikoagulačného roztoku (citrát) vedie k nesprávnym výsledkom vyšetrení rovnako ako predlžovanie doby od odberu krvi po spracovanie v laboratóriu.

Hemolýza

Hemolýza ovplyvňuje výsledky jednak vyplavením obsahu erytrocytov a tým zvyšuje koncentráciu látok, ktoré sú hlavne intracelulárne, jednak analytickou interferenciou (zmena farby a pod.).

Uvoľnenie hemoglobínu a ďalších intracelulárnych látok do séra či plazmy, ktoré vedie k zvýšenej koncentrácii analytov (ALT, AST, LD, Mg, P, K) či k tzv. zriedovaciemu efektu – zníženie koncentrácie (glukóza, bilirubín, ALP, Na, Cl).

Chemická interferencia voľného hemoglobínu alebo štrukturálnych proteínov, enzýmov, lipidov a iných látok obsiahnutých v erytrocytoch pri analytickej reakcii (napr. ovplyvnenie koncentrácie CK spôsobené reakciou intracelulárnej adenylátkinázy).

Spektrofotometrická interferencia, hlavne pri vlnových dĺžkach, kedy hemoglobín silne absorbuje. Uvedené vplyvy se navzájom kombinujú, napr. pri bilirubíne, Fe, lipázy a GMT. Pri stanovení v alkalickom prostredí môže nastať denaturácia hemoglobínu, napr. pri stanovení ALP.

Príčiny hemolýzy môžu byť:

- vlhkosť (použitie vlhkej odberovej súpravy a skúmaviek)
- prudké trepanie krvi v skúmavke
- stekanie krvi z povrchu kože
- uskladnenie krvi v chladničke alebo státie krvi nad radiátorom alebo na slnku
- penenie krvi pri prudkom vyprázdňovaní striekačky
- nesprávny pomer krvi a antikoagulačného činidla
- prítomnosť saponátov v skúmavke
- centrifugácia krvi pri vysokých otáčkach

Lipémia (zákal sera, chylozita): v závislosti od stupňa zákalu spôsobuje interferenciu pri fotometrických a zákalových metódach.

Zmena podielu vody a lipidov: Za normálnych podmienok obsah lipidov v sére nepresahuje 9% celkového množstva. Lipemické sérum môže obsahovať medzi 25 a 30% lipidov, čím sa znižuje percento sérovej vody. To môže zmeniť výsledky pri meraní elektrolytov v sére.

Interferencia v spektrofotometrii: Molekuly lipoproteínov absorbujú svetlo, čo ovplyvňuje parametre, ktoré na ich analýzu vyžadujú nízke vlnové dĺžky. Absorbancia a disperzia svetla spôsobená masťnými molekulami spôsobuje chybu merania v parametroch, ako sú transaminázy a glukóza v sére.

Heterogenita vzorky: Hydrofóbná povaha lipidov spôsobuje separáciu séra v dvoch fázach: vodnej a lipidovej. Hydrofilné látky budú chýbať v lipidovej frakcii vzorky, zatiaľ čo lipofilné látky budú "sekvestrované" touto látkou.

Parametre zmenené lipemickým sérom:

Zvýšená koncentrácia: TP, Alb, Ca, TIBC, P, Mg, Glu,

Znížená koncentrácia: Na, K, Cl, Amyláza, CK

Možné zdroje variability:

Chyby pri odbere vzorky

- pacient nie je nalačno: hypertriacylglycerolémia, hyperglykémia, zmeny v spektre lipoproteínov, vzostup močoviny a kyseliny močovej pri nadmernom prívode bielkovín, pokles anorganického fosforu
- nedostatočný prívod tekutín: hemokoncentrácia
- alkohol: hyperlipoproteinémia (hlavne TAG), zvýšenie aktivity pečenejých enzýmov, hypoglykémia, hyperurikémia
- fajčenie: vplyva na metabolizmus lipidov;
- zvýšená fyzická aktivita pred vyšetrením: zvyšuje albumín, celkové bielkoviny, laktát, amoniak, CK, AST, LD, KVP, dU-ALB, klesá TAG, stúpa HDL
- stres: vyplavenie hormónov kôry a drene nadobličky – vplyv na metabolizmus tukov a hladinu glukózy

Nesprávny odber krvi

- prolongovaná venózna stáza (príliš dlho zatiahnutý turniket): presun tekutiny z krvného riečiska do interstícia, anaeróbny metabolizmus - vzostup koncentrácie kália, CK
- nesprávne poradie skúmaviek pri odbere vzoriek na viaceré vyšetrenia: kontaminácia vzorky aditívom z predchádzajúcej skúmavky (napr. pri poradí: skúmavka na KO, biochemická gélová skúmavka – kontaminácia biochemickej skúmavky EDTA – pokles hladiny Ca, ALP, vzostup K

Chyby pri transporte a skladovaní vzorky

- vzorky musia byť do laboratória dodané čo najskôr
- štandardne majú byť vzorky do príchodu zvozu skladované pri izbovej teplote;
- prolongované skladovanie alebo chladenie vzorky plnej krvi môže spôsobiť zmeny v biochemických parametroch (kálium, glukóza), hemolýza vzorky
- dlhší časový interval medzi odberom moču a jeho vyšetrením vedie k rozpadu prítomných elementov a podhodnoteniu nálezu
- nevhodné zasielať vzorku do laboratória až nasledujúci deň po odbere, prípadne až v pondelok, ak bol odber robený v piatok. V takýchto prípadoch musí byť dátum odberu výrazne vyznačený na žiadanke, musí byť zabezpečené scentrifugovanie vzorky, po centrífugácii musí byť vzorka uložená v chladničke. V opačnom prípade niektoré, resp. všetky parametre nebudú analyzované!

Biologické vplyvy

- *diurnálny rytmus:* viacero parametrov sa mení v závislosti od denného času, maximálne zmeny vykazuje železo, kreatinín, TB, K, Ca, P, Mg, ALP a iné;
- *gravídita:* zníženie koncentrácie TB, Alb, Na, Ca, urea, kreatinín, KM, Fe, sklon ku hypoglykémii; zvýšenie koncentrácie: cholesterol, TAG, HDL, ALP, med', proteíny akútnej fázy (CRP)