

LABORATORIJSKA NAVODILA IN PRIPOROČILA ZA ODVZEM VZORCEV

Doc. dr. Ivica Avberšek Lužnik, spec. med. biokem.

1. PREDANALITIČNI DEJAVNIKI

1.1. Odvzem vzorcev – dejavniki vpliva

1.2. Cirkadialni ritmi

1.3. Vrsta vzorca za analizo

1.3.1. Serum

1.3.2. Plazma

1.3.3. Polna kri

1.3.4. Urin (časovni vzorci, vzorci po načinu odvzema)

1.3.5. Blato (preiskave: prebavljivost, okultna kri, kalprotektin, elastaza)

1.0. PREDANALITIČNI DEJAVNIKI

Predanalitični dejavniki značilno vplivajo na točnost rezultatov nekaterih laboratorijskih preiskav, zato jih mora zdravnik upoštevati pri interpretaciji laboratorijskih izvidov, medicinska sestra pa pri odvzemu vzorcev za laboratorijske preiskave.

1.1. Odvzem vzorcev – dejavniki vpliva.

Hrana:

Na tešče: je potrebno odvzeti kri za sledeče preiskave: glukoza, trigliceridi, železo, anorganski fosfati, aminokisliline.

Položaj telesa:

Sprememba položaja telesa iz ležečega v pokončni položaj zviša sledeče

parametre za 10%: število levkocitov in eritrocitov, hemoglobin, hematokrit, celokupne beljakovine, aktivnost encimov (AST, ALT, GGt, AF, LDH...), lipoproteine in na proteine vezane koncentracije ionov (npr. Ca).

Aplikacija zdravil:

Odvzem vzorcev s izvrši pol ure pred aplikacijo zdravil, razen v primerih, ko zdravnik odredi drugače.

Zažetje vene:

Pred odvzemu krvi je dovoljeno zažetje vene za največ eno minuto.

Alkohol:

Pitje večjih količin alkoholnih pijač skozi daljše obdobje povzroča zvišanje parametrov kot so GGT, CDT in MCV.

Kajenje:

Kadilci imajo rahlo zvišane koncentracije karboksi – hemoglobina in CEA.

Čas odvzema vzorcev:

Zaradi vpliva cirkadialnih ritmov se priporoča odvzem vzorca med 7:00 in 9:00 zjutraj.

1.2. Cirkadialni ritmi:

Vpliv cirkadialnih ritmov je v različnem deležu prisoten pri določanju koncentracije hormonov (kateholaminov, aldosterona, kortikotropina, kortizola, prolaktina, somatotropina in testosterona), elektrolitov v urinu, železa v serumu in posameznih markerjev kostne presnove (osteokalcin, prečni povezovalci kolagena, ...)

1.3. Vrsta vzorca za analizo:

1.3.1. Serum pridobimo po spontani koagulaciji krvi odvzete v epruvete brez dodatkov.

Pri preiskovancu, ki ni na terapiji z antikoagulantnimi sredstvi, kri koagulira po 30 do 40 minutah, pri pacientih, ki prejemajo kakršno-koli antikoagulantno terapijo pa je čas koagulacije krvi lahko daljši (običajno več kot eno uro). Nezdostno koaguliranih vzorcev ne smemo centrifugirati, ker ne dobimo seruma ustrezne kakovosti (takšen serum namreč vsebuje fibrinske niti, ki motijo imunološke analize postopke in povzročajo zamašitve pipetorjev na avtomatizaciji). V laboratoriju SB Jesenice uporabljamo heparinizirano plazmo za večino biokemičnih preiskav, serum pa le za nekatere preiskave (Fe, TIBC, celokupne beljakovine, elektroforeza serumskih proteinov, litij, ECP).

1.3.2. Plazma je zaradi navedenih razlogov bolj primeren vzorec za analize. Plazmo pridobimo po centrifugiranju krvi odvzete v epruvete z antikoagulantni (heparin, EDTA, citrat, oksalat, ...)

Značilne razlike v koncentracijah posameznih parametrov v serumu ali plazmi so pri določanju kalija in pri elektroforezi proteinov. Za določitev glukoze je potrebno odvzeti vzorec krvi v epruveto z natrijevim fluoridom, ki inhibira glikolizo (če glikolize ne inhibiramo, se koncentracije glukoze nižajo za 7% na uro). Za teste

hemostaze se uporablja citratna plazma. Kri je potrebno odvzeti v epruvete z modrim zamaškom, ki vsebujejo raztopino natrijevega citrata (0,11 mmol/L).

1.3.3. Polna kri predstavlja biološki vzorec za hematološke analize kot so štetje krvnih celic (levkociti, eritrociti, trombociti, retikulociti) in citarnostne vrednosti (hematokrit, MCV, MCH, MCHC, RDW, PDW, CHr,...). Za odvzem venske krvi se uporabljajo epruvete z antikoagulantnim sredstvom - EDTA, razen v primerih z EDTA povzročene psevdotrombocitopenije, ko je potrebno izvršiti še odvzem krvi v epruvete z natrijevim citratom (modri zamašek) in rezultate podati glede na sočasno razredčitev krvi.

1.3.4. Urin: Vzorci urina za analizo se razlikujejo glede na čas in način odvzema ali zbiranja. Čas in postopek odvzema morata biti zabeležena na naročilu in laboratorijskem izvidu.

Časovni vzorci urina so:

Prvi jutranji vzorec urina: primeren je primeren za kvalitativno določanje nitritov in proteinov ter za pregled sedimenta urina. Uporablja se lahko tudi za odkrivanje ortostatske proteinurije. Nikoli se ne uporablja za citološko preiskavo na prisotnost malignih celic.

Drugi jutranji vzorec urina: je primeren za rutinske preiskave urina in za citološko analizo. Odvzame se 2 do 4 ure po prvem jutranjen uriniranju, preiskovane pa sme popiti le do 200 mL vode po 22. Uri prejšnjega večera.

Naključni vzorec urina: je vzorec urina brez predhodne priprave preiskovanca, je najpogostejši vzorec urina, ki pa ne odraža pravega stanja, če preiskovanec pred odvzemom popije veliko tekočine oz. če je fizično zelo obremenjen.

Časovni vzorec urina: je vzorec urina, ki je vezan na časovno in dokumentirano zbiranje urina ter na ravnanje po navodilih. Uporaben je za primerjanje koncentracij določenega analita v urinu in krvi.

Vzorci urina glede na način odvzema:

Srednji curek urina: je vzorec izbora za laboratorijsko in mikrobiološko analizo, ker ni kontaminiran z bakterijsko floro iz spodnjih delov sečil.

Prvi curek urina: primeren je za detekcijo *Clamidia trachomatis* s PCR metodo.

Pediatrični vzorci urina : so odvzeti majhnim otrokom s posebnimi tehnikami.

Vzorci urina odvzeti s kateterizacijo in suprapubično aspiracijo.

1.3.5. Blato : V laboratoriju izvajamo preiskavo blata na prebavljivost in na prisotnost okultne krvi, določitve kalprotektina in presejalno testiranje na prisotnost protiteles tipa IgG na tkivno transglutaminazo. Za določanje pankreatične elastaze pošiljamo

vzorke blata v specializiran zunanji laboratorij. Zdravniki, medicinske sestre in/ali laboratorijsko osebje morajo pacientu ob naročilu preiskav blata podati navodilo za postopek odvzema blata. Navodila se glede na izbrano preiskavo razlikujejo.

Pregled blata na prebavljivost: Preiskovana oseba se mora dva dni pred odvzemom blata hraniti po predpisani dieti, ki je sledeča:

- Zajtrk: 0,5L mleka, 50g prepečenca ali 1 žemlja
- Dopoldanska malica: 0,5L zdrobove juhe (40g ovsenega zdroba, 10g masla, 200g mleka, 300g vode, 1 jajce, sol).
- Kosilo: 125g sesekljane puste govedine (pečene na 20g masla, znotraj pa rahlo surove), 250g pretlačenega krompirja (v 100g mleka in 10g masla).
- Popoldanska malica: enako kot za kosilo.
- Večerja: enako kot za dopoldansko malico.
- Drugi dan ponoviti celoten jedilnik.
- Tretji dan zjutraj preiskovanec izvrši odzem vzorca blata na sledeč način:

Postopek odvzema blata za laboratorijske preiskave

1. Urinira v straniščno školjko.
2. Školjko obloži s papirjem.
3. Opravi iztrebljanje.
4. Pripravi posodico z žličko za blato.
5. Z žličko odvzame iz treh različnih mest za lešnik veliko količino blata. Žličko z blatom previdno vstavi v posodico z navojem, jo zapre in čimprej odnese v laboratorij.
6. V laboratorijski praksi so v uporabi tri vrste testov: presejalni nespecifični test (test na kri z gvajak smolo), imunološki kvalitativni testi in imunološki kvantitativni testi.

Okultna kri v blatu: Izvajamo: presejalni nespecifični test z gvajak smolo, imunološki kvalitativni test, za kvantitativni test pa pošiljamo vzorce blata v zunanji specializiran laboratorij.

Nespecifični test z gvajak smolo spremljajo omejitve:

1. Testirati je potrebno najmanj tri zaporedne vzorce blata od različnega iztrebljanja.
2. Vzorec blata mora biti odzet iz različnih delov fekalne mase.
3. Štiri dni pred testiranjem preiskovanec ne sme uživati mesa.
4. Štiri dni pred testiranjem preiskovanec ne sme uživati redkve, zelja, hrena.
5. Štiri dni pred testiranjem naj preiskovanec ne uživa vitamina C.

6. Štiri dni pred testiranjem naj preiskovanec preneha jemati pripravkov z železom in aspirina.
7. Testiranje se mora odložiti, če preiskovanec krvavi iz nosu ali zob.
8. Testiranje se odloži, če ima preiskovanec hemoroide ali diarejo.
9. Testiranje se odloži tudi, če ima preiskovanka menstruacijo.
10. Občutljivost testa je omejena.
11. Test ima nizko specifičnost (reagira tudi na prisotnost hema v zaužiti hrani).

Imunološki kvalitativni testi: Imajo prednosti, so specifični za detekcijo molekule humanega hemoglobina v blatu, zato dieta pred odvzemom vzorcev blata ni potrebna. Na tržišču so različni testi, testi različnih proizvajalcev, ki imajo zaradi uporabe različnih protiteles na hemoglobin tudi različno stopnjo občutljivosti. Obstaja nevarnost preobčutljivih testov, ki lahko zaznajo že fiziološko izločanje krvi v blatu.

Imunološki kvantitativni testi: Za dvig specifičnosti in odstranitev potrebe po dieti so bili razviti kvantitativni imunološki testi za določanje krvi v blatu. Pri teh testih so v uporabi monoklonska ali pa poliklonska protitelesa za detekcijo človeškega hemoglobina. Prednost teh testov je v možnosti nastavitve mejne pozitivne koncentracije hemoglobina v blatu, ki ustreza kliničnim značilnostim preiskovanca. Z izbiro višje mejne vrednosti hemoglobina v blatu za pozitiven rezultat povečamo specifičnost testa, ki zmanjša možnost lažno pozitivnega rezultata. Druga pomembna prednost teh testov pa je izvajanje notranje kontrole kvalitete dela, ki je gvakaj test in kvalitativni testi ne omogočajo. Proizvajalci kvantitativnih testov priporočajo, da vsak laboratorij sam določi mejne vrednosti za populacijo, ki jo testira. S kvantitativno metodo lahko določimo že rahlo zvišane koncentracije krvi v blatu, zato se lahko zdravljenje pacientov prične že v zgodnji fazi bolezni.

Pregled vzorcev blata na prisotnost jajčec, ličink, cist, oocist in trofozoitov črevesnih zajedalcev : Za navedene preiskave pošljamo vzorce blata v mikrobiološki laboratorij. Pri vzorčenju blata se mora preiskovanec držati naslednjih pravil:

1. Po aplikaciji odvajalnih sredstev, antibiotikov in antimalarikov se spremeni črevesna flora, zato je potrebno odvzeti blato pred ali pa sedem dni po aplikaciji naštetih zdravilnih pripravkov.
2. Medicinska sestra mora zabeležiti konsistenco blata. V tekočih vzorcih blata so pogosteje prisotni trofozoiti črevesnih zajedalcev, ciste in oociste v čvrstih, obe obliki pa v poltrdih vzorcih blata.
3. Odvzeti je potrebno tri vzorce blata, odvzete vsak drugi dan (v času desetih dni). Če bolnik nima diareje, se analizirata dva vzorca blata po normalnem iztrebljanju, en vzorec pa po zaužitju odvajala, šest zaporedno odvzetih vzorcev blata pa pri sumu na amebiazo.
4. Za vzorčenje blata so primerni različni zbiralniki za blato, z že dodanim sredstvom za fiksiranje oz. konzerviranje vzorca blata (Para-Pak, Parasep, Protofix,....). Dodana sredstva za

fiksiranje podaljšajo obstojnost vzorca in ni več potrebno, da se tekoče blato pregleda že v 30 minutah po odvzemu, oz. poltrdi in čvrsti vzorci blata v istem dnevu.

Kalprotektin v blatu: Preiskavo izvajamo od leta 2014. Koncentracije kalprotektina, ki so nižje od 50 mg/kg blata so zanesljiv pokazatelj zaceljene sluznice črevesa. Kalprotektin, ki je nižji od 50 mg/kg blata, ima visoko negativno napovedno vrednost za izključitev kronične vnetne črevesne bolezni kot vzroka za gastrointestinalne simptome.

Za starostno populacijo od 16 – 50 let se priporoča mejna vrednost 50 mg/kg blata, za otroke pa mejne vrednosti glede na starost:

1 do 6 mesecev	538 mg/kg blata
7 mesecev do 3 let	214 mg/kg blata
3 leta do 4 let	75 mg/kg blata
> 4 leta	50 mg/kg blata

Najbolj primeren je vzorec prvega jutranjega odvajanja blata. Kalprotektin je odporen na razgradnjo z bakterijami, zato ostaja koncentracija kalprotektina nespremenjena, če vzorec blata hranimo na sobni temperaturi do treh dni, nato pa začne koncentracija kalprotektina padati. Priporoča se hranjenje vzorcev blata do nanalize na 2 - 8 °C, največ sedem dni.