

Vpliv predanalitičnih dejavnikov na kakovost rezultatov klinično-kemijskih preiskav

Barbara Možina

Uvod

Vodenje in izvajanje preiskav je osnovni proces v medicinskem laboratoriju. Medicinski laboratorij je laboratorij, ki preiskuje biološke vzorce, pridobljene iz človeškega telesa z namenom pridobiti podatke za postavitev diagnoze, zdravljenje, preprečevanje bolezni ali oceno zdravstvenega stanja preiskovanca. Laboratorij za preiskovanje vzorcev mora uporabljati le znanstveno preizkušene in s strani mednarodnih ali domačih strokovnih združenj ter razširjenih strokovnih kolegijev priznane metode. V medicinskem laboratoriju razvite metode pa morajo biti pred uporabo preverjene in dokumentirane (1,2).

Rezultati klinično kemijskih preiskav dosežejo namen, če je storitev za naročnika pravilna diagnostična informacija (pravi rezultat, ob pravem času, za pravega preiskovanca, pravih referenčnih vrednosti). Kakovost dela v klinično kemijskih laboratorijih zagotavljamo z vzpostavitvijo celovitega sistema kakovosti v laboratorijskem procesu, ki obsega *pred-analitično*, *analitično* in *po-analitično* fazo.

Predanalitična faza

Predanalitična faza so vsi procesi, ki se zgodijo pred samo laboratorijsko analizo. Laboratorij nosi odgovornost za točnost, pravilnost in pravočasnost posredovanja rezultatov laboratorijskih preiskav, vendar se številne napake lahko pojavijo v pred ali v po-analitični fazi, na katere pa laboratorij velikokrat nima vpliva.

Laboratorijska napaka je napaka, ki se zgodi v kateremkoli delu laboratorijskega procesa, od naročila preiskave, analize, do poročanja o rezultatih, njihove pravilne interpretacije in reakcije nanje.

Najpogostejše napake v pred-analitični fazi so:

- hemoliziran vzorec (54%);
- premalo vzorca (21%);
- nepravilno odvzet vzorec (13%);
- koaguliran ali delno koaguliran vzorec (5%) (3).

Viri napak v predanalitični fazi:

1. Naročilo preiskav:

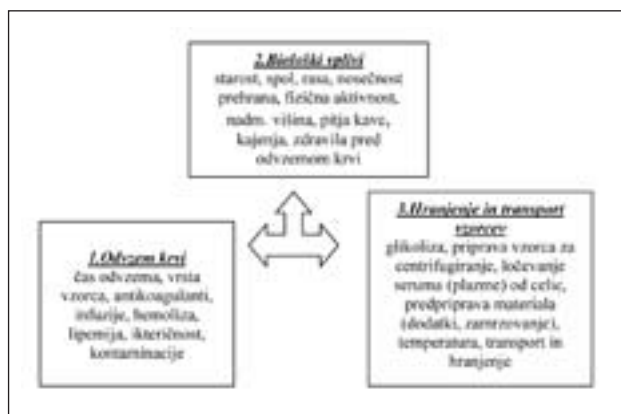
- napaka v identifikaciji bolnika;
- manjkajoča identifikacija naročnika;
- manjkajoča identifikacija oddelka;
- popravki naročil;
- neustrezen izbor preiskav.

2. Vzorčenje:

- neodvzeti vzorci za naročene preiskave;
- kontaminacije "orodja" za odvzem vzorcev s krvjo;

- poškodbe pri odvzemu;
- ponovni odvzemi;
- odvzemi krvi ob neustreznem času ali pred diagnostičnimi posegi, ki vplivajo na klinično kemijske preiskave.

Za dvig kakovosti celotnega procesa je potrebna vključitev vseh soudeležencev v procesu. Celoten sistem moramo razumeti kot zaporedje postopkov in dogodkov, od katerih je vsak lahko potencialen vir napak (Slika 1).



Slika 1: Predanalitična faza

1. Odvzem krvi

Priporočen postopek za odvzem venske krvi določa merila za pravi odvzem krvi in pravilno ravnanje z odvzetimi krvnimi vzorci. Postopek lahko prilagodimo različnim možnostim in potrebam posameznega uporabnika (klinike, bolnišnice, ambulante, laboratorija). Za odvzem vedno uporabljamo sistem zaprtega načina za odvzem, ki ga poznamo pod izrazom »vakuteinški« sistem.

S tem sistemom zmanjšamo verjetnost okužbe na minimum, vedno odvajamo natančno količino krvi in skoraj nemogoče je, da bi uporabili napačne epruvete. Poenostavljen je odvzem krvi in transport odvzetih vzorcev, omogočeno je sistematično razvrščanje v laboratorij sprejetih vzorcev (4).

Čas odvzema krvi

Kri za laboratorijske analize naj bi preiskovancem jemali med 7. in 9. uro zjutraj, ker so bili ob tem času odvzeti tudi vzorci, iz katerih so izračunali referenčne vrednosti za posamezne parametre. Pred odvzecom krvi za določitev glukoze, železa, lipidov in alkalne fosfataze (ALP) mora biti bolnik tešč. Za določitev sečne kisline 3 dni pred odvzecom krvi preiskovanec ne sme uživati purinskih obrokov, alkohola in

nekaterih zdravil. Priporočljivo je, da se odvzem opravi 12 ur po zadnjem obroku ter pred diagnostičnimi in terapevtskimi postopki, ki vplivajo na klinično kemijske preiskave (5).

Pomembno vlogo ima tudi preiskovančev *položaj* med odvzemom krvi (stoječ, ležeč, sedeč). Pri stoječem položaju se zmanjša količina plazme, zato v plazmi porastejo koncentracije proteinov, encimov, zdravil, kalcija, bilirubina (6).

Kadar ob odvzemu žilna preveza traja predolgo (> 30 sekund), pride do hemokoncentracije, kar povzroči lažno zvišane vrednosti proteinov, hematokrita, lipidov, encimov, bilirubina, železa, kalcija in drugih, na proteine vezanih substanc in številčne koncentracije celic. „Pumpanje“ s pestjo privede do znatnega zvišanja kalija (do 1 mmol/L).

Vrsta vzorca in antikoagulant

Pri odvzemu krvi v večje število različnih epruvet, ki so namenjene različnim vrstam preiskav, je treba upoštevati določeno zaporedje polnjenja epruvet:

1. vzorci za hemokulture;
2. vzorci za biokemijo (serum; brez dodatkov);
3. vzorci za teste hemostaze (plazma; antikoagulant Na- citrat);
4. vzorci za biokemijo (plazma; antikoagulant Li-heparinat);
5. vzorci za hematologijo (polna kri; antikoagulant K_2/K_2 EDTA);
6. vzorci za glukozo, laktat (plazma; antikoagulant Na-fluorid ali Na-jodoacetat) (6).

Pomembna je tudi izbira pravega antikoagulant, saj ima vsak od njih svojo vlogo. Glede na vsebino epruvete (vrsto antikoagulant, so epruvete standardno označene.

Interference iz infuzijskih kanalov

Za odvzem krvi za laboratorijske preiskave se v bolnišnicah pogosto uporabljajo intravenski ali intraarterijski kanali. Ta postopek »varuje« vene za druge terapevtske namene, za bolnika pa je tudi manj obremenjujoč.

Kadar odvezemamo kri za laboratorijske preiskave iz infuzijskih linij, vedno zavržemo nekaj krvi (5-10 ml). Tako se izognemo kontaminaciji vzorcev z zdravili ali heparinom in prepričimo razredčitev vzorca z infuzijsko tekočino.

Kontaminacija s heparinom povzroči nepravilne rezultate koagulacijskih testov in lažno povečane vrednosti troponina. Pri vnašanju intravenskih raztopin v eno roko, je treba kri vedno odvzeti iz druge roke (Tabela 1).

Infuzija	Čas vzorčenja krvi po aplikaciji infuzije (ure)
emulzija maščob	8
raztopina ogljikovih hidratov	1
hidrolizat aminokislina in proteinov	1
elektroliti	1

Tabela 1: Priporočila za odvzem krvi za laboratorijske diagnostične teste po aplikaciji infuzijskih raztopin (6)

Hemoliza je sproščanje sestavine krvnih celic v plazmo ali serum. Po centrifugiranju jo opazimo kot rdeče obarvanje seruma ali plazme, ki jo povzroči prosti hemoglobin. Vidna je, ko je koncentracija hemoglobina večja od 0,3g/L. Poznamo hemolizo »in vivo« zaradi hemolitičnega sindroma ali transfu-

zijske reakcije ter hemolizo »in vitro«, ki je navadno posledica napake v katerikoli stopnji pred-analitične faze.

Zaradi hemolize so vrednosti analitov, ki so v celicah v večjih koncentracijah, v serumu oz. plazmi povečane (kalij, fosfor, aspartat-aminotransferaza (AST), laktat-dehidrogenaza (LDH)...). Prosti hemoglobin, ki obarva krvni serum, povzroči kemične, biokemične in imunološke interference med merjenjem v analitskih postopkih posameznih analitov (bilirubina, kreatinina, sečne kisline...) (6).

Lipemičnost je motnost seruma ali plazme, ki je posledica velike koncentracije trigliceridov in drugih lipoproteinskih delcev (hilomikronov, VLDL). V serumu je lipemičnost opazna že pri koncentraciji trigliceridov 3,4 mmol/L, v polni krvi pa šele pri 11,3 mmol/L. Lipemični serum interferirajo s fotometričnimi meritvami analiznih metod pri vseh valovnih dolžinah. Tako so lažno zvišani rezultati proteinov, glukoze, sečne kisline, zmanjšane pa koncentracije natrija, kreatinina in kreatin-kinaze (CK). Lipemičnosti vzorca vpliva tudi na rezultate hematoloških preiskav (lažno zvišan hemoglobin) (6).

2. Biološki vplivi

Biološki vplivi povzročajo spremembe analitov in vivo, so neodvisni od preiskovanih metod in so neizogibni. Spremenljivi faktorji so telesna teža, mišična masa, stradanje, dieta, prehrabene navade, fizična aktivnost, menstrualni cikel, diagnostični in terapevtski postopki, zdravila itd. Nespremenljivi faktorji so spol, starost, rasa in dedni faktorji.

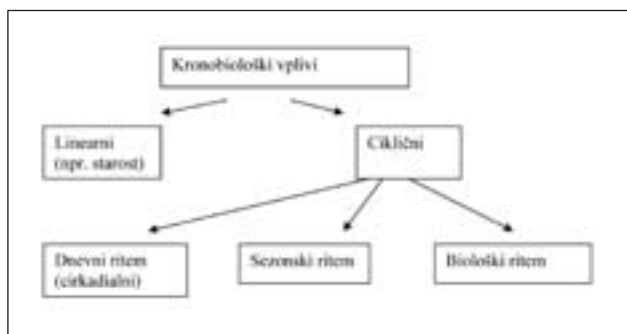
Koncentracije nekaterih analitov v krvi in urinu so odvisne od *spola* in se s *starostjo* spreminjajo. ALP, CK, AST, gama glutamiltransferaza (GGT), sečna kislina, kreatinin, amonijak, železo, sečnina, trigliceridi, holesterol, LDL-holesterol so pri moških višji kot pri ženskah. Koncentracije železa se pri ženskah po 65 letu močno zmanjšujejo. S starostjo se koncentracija celokupnega holesterola in LDL-holesterola zvišuje po 45 letu starosti. ALP v serumu je pri otrocih višja kot pri odraslih, doseže svoj maksimum okrog 12. leta starosti, nato pada in je pri 18. letih enaka kot pri odraslih (6).

Pri interpretaciji laboratorijskih rezultatov v *nosečnosti* je potrebno upoštevati tedne gestacije. Zaradi hormonskih sprememb so v nosečnosti spremenjene koncentracije tiroidnih hormonov, proteinov, zlasti proteinov akutne faze vnetja, nekaterih lipidov, metabolitov, encimov in faktorjev koagulacije (6).

Vpliv *fizičnega napora* na sestavo analitov v krvi je povezan s trajanjem in intenzivnostjo aktivnosti. Zaradi telesnega napora pred odvzemom krvi lahko dobimo pri rezultatih laboratorijskih analiz lažno povečane vrednosti proteinov in na njih vezanih snovi, laktata, sečne kisline, poveča se prepustnost celic, povečajo se vrednosti LDH, CK, AST, aldolaze itd. (6).

Zaradi *stresa* se sproščajo kateholamini in kortikosteroidi, pride do sprememb v intermedianem metabolizmu ogljikovih hidratov in lipidov. Stimulacija nadledvične žleze poveča vrednosti glukoze in encimov skeletne mišične mase.

Kronobiološki vplivi so biološki ritmi, to so ciklične in linearne periode, ki lahko trajajo manj kot en dan (ultradijalni), približno en dan (cirkadijalni) in dalj kot en dan (infradijalni). V klinični biokemiji so najpomembnejša cirkadijalna nihanja koncentracij posameznih parametrov (Slika 2).



Slika 2: Kronobiološki vplivi: linearni in ciklični (6)

V vzorcih odvzetih v različnih časih dneva dobimo različne koncentracije posameznega parametra, kar pa je posledica normalnega fiziološkega oz. cirkadijalnega nihanja. Za pravilno interpretacijo rezultatov je zato pomembna ura odvzema (Tabela 2).

Parameter	Maksimum (čas dneva)	Minimum (čas dneva)	Odstopanje v teku dneva v %
ACTH	6-8	0-4	150-200
Kortizol (S, U)	5-8	21-3	180-200
Testosteron	2-4	20-24	30-50
TSH	20-2	7-13	5-15
T4	8-12	23-3	10-20
Somatotropin	21-23	1-21	300-400
Prolaktin	5-7	10-12	80-100
Aldosteron	2-4	12-14	60-80
Renin	0-6	10-12	120-140
Epinefrin(S)	9-12	2-5	30-50
Norepinefrin (S,U)	9-12	2-5	50-120
Hemoglobin	6-18	22-24	8-15
Eozinofilci	4-6	18-20	30-40
Železo (S)	14-18	2-4	50-70
Kalij (S)	14-16	23-1	5-10
Fosfat (S)	2-4	8-12	30-40
Natrij(U)	4-6	12-16	60-80
Fosfat (U)	18-24	4-8	60-80
Volumen (U)	2-6	12-16	60-80
Telesna temperatura	18-20	5-7	0,8-1,0°C

Tabela 2: Dnevni ritmi pri izbranih parametrih v serumu (S) in urinu (U) (6)

Interference so moteči faktorji, ki spremenijo koncentracijo ali aktivnost samega analita, lahko pa vplivajo na analizo reakcijo. Lahko so endogeni in se nahajajo v telesu preiskovanca ali eksogeni, katere vnesemo v vzorec (Tabela 3.).

Med endogene interference prištejemo:

- snovi, ki motijo analizo reakcijo (npr. hemoglobinemije, hiperlipoproteinemije, bilirubinemije)
- snovi, ki so bile aplicirane bolniku v terapevtske namene (kontrastna sredstva, zdravila)
- hladne aglutinine, ki povzročajo aglutinacijo eritrocitov (Erci↓, Hb=N, MCV↑, Ht↓, MCH↑, MCHC↑, Lkc↑, Tr ↑)

- imunoglobuline, ki z encimi tvorijo velike komplekse – makroencime
- krioglobuline, ki se obarjajo pri sobni temperaturi in povzročajo lažno psevdolevkocitozo, psevdotrombocitozo
- avtoprotitelesa, ki motijo imunološke teste npr. protitelesa proti trijodtironinu (T3) in tiroksinu (T4), ki povzročajo lažno zvišano koncentracijo tiroidnih hormonov.

Infuzija/Transfuzija	Vpliv na analit/preiskavo	Trend	Mehanizem
dekstran	Trombinski čas, reptilazni čas,	↓	5-10 sek počasneje
	Von Willebrandov faktor,	↓	
	celokupni proteini v serumu, plazmi	↑	motnost, obarvanost
	sečnina	↓	
	serologija/ krvne skupine		psevdoaglutinacije
γ-globulini	serologija		lažno pozitivno
elektroliti	K, Na, Mg	↑	kontaminacija
glukoza	glukoza	↑	kontaminacija
glukoza	anorg.fosfat, K	↓	insulin
	amilaza, bilirubin	↓	do 15%
fruktoza	sečna kislina	↑	metabolni efekt
citrat (krvna transfuzija!)	pH krvi	↓	
	koagulacijski testi	↓↑	inhibicija

Tabela 3: Interference laboratorijskih diagnostičnih testov z infuzijskimi raztopinami (6)

3. Hranjenje in transport vzorcev

Po odvzemu biološki material v najkrajšem možnem času odnesemo v ustrezni laboratorij. Epruvete s krvjo prenašamo v primernih torbah/posodah v pokončnem položaju, saj kri le tako popolnoma koagulira. Stresanje vzorcev med potjo lahko povzroči hemolizo.

Kri popolno in spontano koagulira pri sobni temperaturi navadno v 30 do 60 minutah po odvzemu, zato jo šele po tem času lahko centrifugiramo. Z uporabo epruвет, ki vsebujejo aktivatorje koagulacije je centrifugiranje omogočeno že po 15 do 30 minutah.

Pri razdeljevanju in hranjenju vzorcev pred analizo je pomembno vedeti:

- Ločitev seruma od krvnih celic moramo narediti čim hitreje po odvzemu krvi, najkasneje v 2 urah.
- K₃EDTA venska kri je obstojna pri sobni temperaturi 24 ur.
- Razmaz krvi za diferencialno krvno sliko moramo narediti v 3 urah po odvzemu krvi.
- Obstojnost trombocitov je 5 ur, če kri hranimo pri sobni temperaturi oz. 24 ur, če kri hranimo v hladilniku.
- Sedimentacijo eritrocitov moramo narediti v 2 urah po odvzemu krvi oz. v 24 urah, če kri hranimo v hladilniku.
- Kri za določitev testov hemostaze po odvzemu takoj odnesemo na ledu v laboratorij. Odlito plazmo lahko hranimo na sobni temperaturi le 4 ure.
- Do analize serum hranimo v zaprtih epruветah pri 22°C največ 8 ur. Če analize ne moremo narediti v tem času, serum hranimo v hladilniku oz. če analiza ne bo narejena v 48 urah, serum zamrzemo (7,8,9).

Posledice laboratorijskih napak

- 26-30% laboratorijskih napak povzroči nesprejemljiv vpliv na oskrbo bolnikov;
- 6.4% napak povzroči napačno transfuzijo, spremembe v infuzijah heparina, elektrolitov, spremembo doziranja zdravil (npr. digoksina);
- ~30% laboratorijskih napak vodi k ponavljanjem preiskav, invazivnim posegom, konzultacijam;
- analitske interference pri imunokemijskih testih v 21% potencialno vodijo v napačno obravnavo bolnika;
- zviševanje stroškov zdravljenja (10,11).

Sklep

Laboratorijske napake je potrebno prepoznati in jih popraviti. Z notranjo in zunanjo kontrolo kakovosti lahko v laboratoriju zagotovimo le zanesljivo obdelavo predanega biološkega materiala. Zavedati se je potrebno, da biološki vplivi, napake pri odvzemu ali transportu lahko laboratorijske rezultate tako spremenijo, da so neuporabni ali celo nevarni. Problematiko predanalitične faze morajo poznati tako laboratorijsko osebje kot tudi zdravniki in negovalno osebje in nastale probleme se lahko rešuje le z dobrim sodelovanjem.

Viri

1. Pravilnik o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine. Uradni List RS, št. 64/06; 8129-32
2. International Organization for Standardization (ISO). Medical laboratories – Particular requirements for quality and competence. (ISO/DIS 15189). ISO Geneva.
3. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2006; 4:358-365
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Approved Standard, Document H3-A4. Villanova, Pennsylvania; 1998
5. Thomas L. Clinical Laboratory Results. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. Use and Assessment of Clinical Laboratory Results. TH Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt, 1998: 1453-1463.
6. Guder WG, Narayanam S, Wisser H, Zawata B. Samples: From the Patient to the Laboratory. GIT VERLAG, Darmstadt; 1996: 1-101.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens. Approved Guideline H18-A3. Villanova, Pennsylvania; 2005
8. Prezelj M. Priporočeni postopki za transport krvnih in drugih diagnostičnih vzorcev. Slovensko združenje za klinično kemijo. Ljubljana; 2006
9. Prezelj M. Priporočila za ravnanje s krvnimi vzorci. Slovensko združenje za klinično kemijo. Ljubljana; 2006
10. Plebani M. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? *Clinical Governance in Healthcare. Clin Chem Lab Med* 2006; 6:750-759
11. Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, Rubboli F. Errors in Laboratory Medicine. *Clin Chem* 2002; 5: 691-698
12. Piskar M. Priporočeni postopki za odvzem venske krvi. Slovensko združenje za klinično kemijo. Ljubljana; 1999