

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI  
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

# **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**2021**

**Adéla Wilhelmová**

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

**Adéla Wilhelmová**

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

**PREANALYTICKÉ VLIVY NA VÝSLEDEK  
LABORATORNÍHO VYŠETŘENÍ, VLIV HEMOLÝZY SÉRA  
NA VÝSLEDKY BIOCHEMICKÝCH VYŠETŘENÍ**

**Bakalářská práce**

Vedoucí práce: Ing. Kateřina Bršlicová

PLZEŇ 2021

# ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta zdravotnických studií

Akademický rok: 2020/2021

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Adéla WILHELMOVÁ**  
Osobní číslo: **Z18B0147P**  
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Preanalytické vlivy na výsledek laboratorního vyšetření, v  
lýzy séra na výsledky biochemických vyšetření**  
Zadávací katedra: **Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného  
nictví**

### Zásady pro vypracování

- Zpracovat seznam odborné literatury
- Stanovit cíl kvalifikační práce
- Zpracovat teoretickou a praktickou část práce dle požadavků FZS
- Popsat metodiku praktické části
- Vypracovat diskuzi a závěr kvalifikační práce
- Dodržet formální úpravu kvalifikační práce dle požadavků FZS
- Dodržet citační normu

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah grafických prací:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

### Seznam doporučené literatury:

- RACEK, Jaroslav, Klinická biochemie, ed. 2. přepr., Praha: Galén, c2006, 329 s., ISBN 80-7262-324-9.
- BUNEŠOVÁ, Martina a Anna SKALICKÁ, Pracovní postup – preanalytická fáze laboratorního vyšetření, ed. Praha, Česká asociace sester, Pracovní postupy, 2008, ISBN 978-80-7262-574-1.
- Tomáš Zíma, Laboratorní diagnostika, ed., dopl. a přeprac. vyd., Praha: Galén, c2013, ISBN 978-80-7492-062-2.
- JINDROVÁ, Hana, Markéta KAJABOVÁ a Romana CALÁBKOVÁ, Vliv preanalytické fáze na biochemické laboratorní výsledky., Medicína pro praxi, 2012, 9(3), 137-140. ISSN 1214-8687.
- KROLL, M.H. a R.J.ELIN. Interference with clinical laboratory analyses., Clinical chemistry. 1994, 40(11), 1996-2005. ISSN 0009-9147.

Vedoucí bakalářské práce:

**Ing. Kateřina Bršlicová**

Katedra záchranářství, diagnostických oborů  
a veřejného zdravotnictví

Datum zadání bakalářské práce:

**1. června 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**31. března 2021**



**PhDr. Lukáš Štich, MBA**  
děkan



**Mgr. Stanislava Reichertová**  
vedoucí katedry

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 31. 3. 2021.

.....

vlastnoruční podpis

## **Abstrakt**

Příjmení a jméno: Wilhelmová Adéla

Katedra: KAZ – Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Preanalytické vlivy na výsledek laboratorního vyšetření, vliv hemolýzy séra na výsledky biochemických vyšetření

Vedoucí práce: Ing. Kateřina Bršlicová

Počet stran – číslované: 59

Počet stran – nečíslované: 19

Počet příloh: 0

Počet titulů použité literatury: 26

Klíčová slova: preanalytická fáze, ovlivnitelné faktory, neovlivnitelné faktory, hemolýza, hemolytické sérum, biochemie, laboratorní vyšetření

### **Souhrn:**

Tato bakalářská práce na téma Preanalytické vlivy na výsledek laboratorního vyšetření, vliv hemolýzy séra na výsledky biochemických vyšetření se v první teoretické části zabývá preanalytickou fází samotného laboratorního vyšetření. Je zde popsáno, jakými možnými faktory může dojít k ovlivnění výsledku. Druhá část teoretické části je věnována nejčastěji způsobenou preanalytickou chybou, neboli hemolytickému séru. Toto sérum do jisté míry způsobuje pozitivní ovlivnění některých biochemických vyšetření. Praktická část je rozdělena na kvalitativní a kvantitativní výzkum. Veškerá data v praktické části jsou anonymní a jsou získána z Fakultní nemocnice v Plzni.

## Abstract

Surname and name: Wilhelmová Adéla

Department: KAZ - Department of Rescue, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Preanalytical influences on the result of laboratory examination, influence of serum hemolysis on the results of the biochemical examinations

Consultant: Ing. Kateřina Bršlicová

Number of pages – numbered: 59

Number of pages – unnumbered: 19

Number of appendices: 0

Number of literature items used: 26

Keywords: preanalytical phase, modifiable factors, non-modifiable factors, hemolysis, hemolytic serum, biochemistry, laboratory examination

### Summary:

This bachelor's thesis on the topic of preanalytical influences on the result of laboratory examination, the influence of serum hemolysis on the results of biochemical examinations deals in the first theoretical part with the preanalytical phase of the laboratory examination itself. It describes what possible factors can affect the result. The second part of the theoretical part is devoted to the most frequently caused preanalytical error, or hemolytic serum. To some extent, this serum adversely affects some biochemical tests. The practical part is divided into qualitative and quantitative research. All data in the practical part are anonymous and are obtained from the University Hospital in Pilsen.

## **Předmluva**

Téma této bakalářské práce: „Preanalytické vlivy na výsledek laboratorního vyšetření, vliv hemolýzy séra na výsledky biochemických vyšetření“ jsem si vybrala, neboť mi tato problematika přišla velice zajímavá a chtěla bych tyto problematické faktory preanalytiky poznat podrobněji a časem se pokusit přijít na nějaká možná opatření, které by zamezily vzniku chyb. Dále bych chtěla poukázat na možné ovlivnění biochemických výsledků, které způsobuje hemolytické sérum.

## **Poděkování**

Děkuji Ing. Kateřině Bršlicové za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále bych chtěla poděkovat Fakultní nemocnici v Plzni, která mi poskytla anonymizovaná data pro moji praktickou část.



# OBSAH

SEZNAM GRAFŮ .....	12
SEZNAM OBRÁZKŮ .....	13
SEZNAM TABULEK .....	14
SEZNAM ZKRATEK .....	15
ÚVOD.....	17
TEORETICKÁ ČÁST .....	19
1 PREANALYTICKÁ FÁZE.....	19
1.1 Osoba pacienta.....	20
1.1.1 Faktory neovlivnitelné.....	20
1.1.1.1 Pohlaví.....	20
1.1.1.2 Rasa, etnická či sociální skupina obyvatel.....	21
1.1.1.3 Věk .....	21
1.1.1.4 Cyklické změny.....	21
1.1.1.5 Gravidita.....	22
1.1.2 Faktory ovlivnitelné.....	22
1.1.2.1 Fyzická aktivita .....	22
1.1.2.2 Psychický stres a mechanické trauma .....	23
1.1.2.3 Vliv potravy a tekutin.....	23
1.1.2.4 Vliv kouření a alkoholu.....	25
1.1.2.5 Vliv léků.....	25
1.2 Odběr vzorku .....	25
1.2.1 Zásady správného odběru krve .....	25
1.2.2 Odběrová nádobka.....	25
1.2.3 Poloha pacienta.....	26
1.2.4 Chyby při odběru .....	26
1.2.5 Druhy odběru krve.....	26
1.2.5.1 Odběr venózní krve .....	26
1.2.5.2 Odběr kapilární krve.....	27
1.2.5.3 Odběr arteriální krve .....	27
1.2.5.4 Odběr arterializované krve .....	27

1.2.6	Vyšetření z nesrážlivé krve a plazmy .....	27
1.3	Transport vzorku .....	27
1.4	Uchovávání a stabilita vzorku .....	28
2	KREV .....	29
2.1	Krevní elementy .....	29
2.1.1	Erytrocyty .....	29
2.1.2	Leukocyty .....	29
2.1.3	Trombocyty .....	29
2.2	Krevní plazma .....	29
2.3	Biochemické vyšetření krve .....	29
2.3.1	Druhy vyšetřované krve .....	30
2.3.1.1	Plná krev .....	30
2.3.1.2	Sérum .....	30
2.3.1.3	Plazma .....	31
2.3.2	Interference při vyšetření krve .....	32
2.3.2.1	Ikterita .....	33
2.3.2.2	Chylozita .....	33
2.3.2.3	Hemolýza .....	34
3	HEMOLÝZA .....	35
3.1	Vznik hemolýzy .....	35
3.1.1	Intravaskulární hemolýza .....	35
3.1.1.1	Příčiny intravaskulární hemolýzy .....	35
3.1.2	Extravaskulární hemolýza .....	36
3.1.2.1	Příčiny extravaskulární hemolýzy .....	36
3.2	Důsledky hemolýzy .....	36
3.2.1	Analyty podléhající hemolýze .....	37
3.2.2	Hemolytický index .....	38
3.3	Interpretace hemolytických vzorků .....	38
	PRAKTICKÁ ČÁST .....	39
4	CÍLE, DÍLČÍ CÍLE A PŘEDPOKLADY .....	39
4.1	Hlavní cíl .....	39
4.1.1	Kvalitativní výzkum .....	39
4.1.2	Kvantitativní výzkum .....	39
4.2	Dílčí cíle .....	39

4.2.1	Kvalitativní výzkum .....	39
4.2.2	Kvantitativní výzkum .....	39
4.3	Předpoklady .....	39
4.3.1	Kvalitativní výzkum .....	39
4.3.2	Kvantitativní výzkum .....	39
5	VÝZKUMNÉ OTÁZKY .....	40
5.1	Kvalitativní výzkum .....	40
5.2	Kvantitativní výzkum .....	40
6	METODIKA PRÁCE .....	41
7	KVALITATIVNÍ VÝZKUM .....	42
7.1	Porovnání času transportu materiálu nad 2 hod. ....	43
7.1.1	Celkové porovnání transportu materiálu za jedno čtvrtletí .....	43
7.1.2	Celkové porovnání transportu materiálu za jednotlivé měsíce.....	44
7.2	Porovnání časového limitu u transportu materiálu do laboratoře a četnost hemolytických sér mezi dvěma částmi Fakultní nemocnice v Plzni za jednotlivá období . .....	46
7.2.1	Data za období září .....	46
7.2.2	Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc září 2020.....	47
7.2.3	Data za období říjen.....	49
7.2.4	Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc říjen 2020 .....	51
7.2.5	Data za období listopad .....	52
7.2.6	Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc listopad 2020 .....	54
7.2.7	Data za období prosinec .....	55
7.2.8	Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc prosinec 2020 .....	57
7.3	Shrnutí a porovnání získaných dat.....	58
7.3.1	Procentuální porovnání překročeného limitu pro transport a četnost hemolýzy mezi částmi Bory a Lochotín.....	58
7.4	Procentuální zastoupení hemolýz ve Fakultní nemocnici v Plzni .....	61
8	KVANTITATIVNÍ VÝZKUM .....	63
8.1	Hemolytické sérum a jeho vliv na konkrétní metody .....	64
8.1.1	Hemolytické sérum a jeho vliv na měření aktivity aspartátaminotransferázy... .....	65
8.1.2	Hemolytické sérum a jeho vliv na měření aktivity laktátdehydrogenázy .....	67
8.1.3	Hemolytické sérum a jeho vliv na měření koncentrace draselných iontů .....	69
9	DISKUZE .....	72
10	ZÁVĚR.....	76
	SEZNAM LITERATURY.....	77

## SEZNAM GRAFŮ

<i>Graf 1</i> Procentuální zastoupení jednotlivých fází laboratorního vyšetření podle časové náročnosti (průměrné hodnoty).....	21
<i>Graf 2</i> Průměrné porovnání transportu materiálu za období září 2020 - prosinec 2020.....	44
<i>Graf 3</i> Grafické zpracování transportu za jednotlivá období.....	45
<i>Graf 4</i> Zpracování dat za měsíc - září 2020.....	47
<i>Graf 5</i> Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc - září 2020.....	48
<i>Graf 6</i> Zpracování dat za měsíc - říjen 2020.....	51
<i>Graf 7</i> Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc - říjen 2020.....	52
<i>Graf 8</i> Zpracování dat za měsíc - listopad 2020.....	54
<i>Graf 9</i> Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc - listopad 2020.....	55
<i>Graf 10</i> Zpracování dat za měsíc - prosinec 2020.....	57
<i>Graf 11</i> Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc - prosinec 2020.....	58
<i>Graf 12</i> Procentuální zastoupení nesprávného časového limitu pro transport materiálu mezi částmi Fakultní nemocnice v Plzni za období - září 2020 - prosinec 2020.....	59
<i>Graf 13</i> Procentuální zastoupení hemolýzy při nedodržení časového limitu pro transport materiálu mezi částmi Fakultní nemocnice v Plzni za období - září 2020 až prosinec 2020.....	60
<i>Graf 14</i> Grafické zpracování tabulky 13 .....	61
<i>Graf 15</i> Procentuální zastoupení hemolytických sér v měsíci - leden 2021 .....	62
<i>Graf 16</i> Procentuální zastoupení hemolytických vzorků v rámci laboratoří.....	63
<i>Graf 17</i> Boxploty pro hodnoty AST.....	66
<i>Graf 18</i> Boxploty pro hodnoty LD.....	68
<i>Graf 19</i> Boxploty pro hodnoty K.....	71

## **SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1: Zkumavka na odběr plné krve. ....	31
Obrázek 2: Zkumavka na odběr séra. ....	32
Obrázek 3: Zkumavka na odběr plazmy. ....	33
Obrázek 4: Porovnání séra/plazmy. ....	34

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Příklady laboratorních metod, jejíž výsledky podléhají diurnálnímu rytmu.....	23
Tabulka 2: Zvýšení sérové koncentrace po požití standardního jídla (za 2 hodiny).....	25
Tabulka 3: Stupně hemolýzy.....	38
Tabulka 4: Četnost dat pro jednotlivá období.....	45
Tabulka 5: Četnost dat pro měsíc - září 2020.....	47
Tabulka 6: Četnost dat pro hemolytické vzorky - září 2020.....	49
Tabulka 7: Četnost dat pro měsíc - listopad 2020.....	50
Tabulka 8: Četnost dat pro hemolytické vzorky - říjen 2020.....	52
Tabulka 9: Četnost dat pro měsíc - listopad 2020.....	53
Tabulka 10: Četnost dat pro hemolytické vzorky - listopad 2020.....	55
Tabulka 11: Četnost dat pro měsíc - prosinec 2020.....	56
Tabulka 12: Četnost dat pro hemolytické vzorky - prosinec 2020.....	58
Tabulka 13: Souhrn dat za měsíce září 2020 - prosinec 2020 .....	61
Tabulka 14: Četnost dat pro graf 15.....	62
Tabulka 15: Četnost dat pro graf 17.....	67
Tabulka 16: Četnost dat pro graf 18.....	69
Tabulka 17: Četnost dat pro graf 19.....	72

## SEZNAM ZKRATEK

ABR .....	acidobazická rovnováha
ACP.....	kyselá fosfatáza
ALB .....	albumin
ALP .....	alkalická fosfatáza
ALT.....	alaninaminotransferáza
AMS.....	alfaamyláza
apod. ....	a podobně
AST.....	aspartátaminotransferáza
Bil.....	bilirubin
CB .....	celková bílkovina
CB.....	celková bílkovina
CK .....	kreatinkináza
Cl <sup>-</sup> .....	chlorid
CO <sub>2</sub> .....	oxid uhličitý
ELFO .....	elektroforéza
Fe .....	železo
g/l.....	gram na litr
GF .....	glomerulární filtrace
GGT .....	γ-glutamyltransferáza
Hb.....	hemoglobin
hod .....	hodiny
hodnota p.....	hodnota pravděpodobnosti
HTK .....	hematokrit
CHS.....	cholinesteráza
ICT.....	intracelulární tekutina
K <sup>+</sup> .....	draslík
LD .....	laktátdehydrogenáza

Li .....	lithium
Mg .....	hořčík
min .....	minuty
mmol/l.....	milimol na litr
Na <sup>+</sup> .....	sodík
např. ....	například
nm .....	nanometr
O <sub>2</sub> .....	kyslík
P .....	fosfor
PSA .....	prostatický specifický antigen
SLP.....	správná laboratorní práce
TAG/TG.....	triacylglyceroly
TAT.....	total turnaround time – celková doba obratu
VLDL.....	velmi nízkodenzitní lipoprotein (very-low-density-lipoprotein)
VLR .....	volné lehké řetězce



## ÚVOD

První část této bakalářské práce se zabývá problematikou preanalytické fáze laboratorního vyšetření a zároveň poukazuje na možné ovlivnění výsledku biochemického vyšetření, který je způsoben hemolýzou.

Teoretická část je rozdělena na dvě části. První část práce popisuje preanalytickou fázi a její obrovský vliv na jakékoli vyšetření v laboratoři. Prvotní fáze se nazývá pre-preanalytická a začíná u lékaře, který indikuje dané vyšetření. Tato indikace zahrnuje několik kroků samotné preanalytické fáze. Tato fáze je nejdelší a zároveň nejproblematictější částí laboratorního vyšetření. Uvádí se: „*nerespektování preanalytických vlivů způsobuje chybný výsledek nebo jeho nesprávné hodnocení častěji než analytická chyba.*“ (RACEK, c2006 str. 23).

Je velmi důležité dodržovat daná pravidla, která se snaží o generalizaci a omezení vzniklých chyb. U pre-preanalytické fáze se jedná především o vhodné načasování odběru pacienta, správně provedený odběr a transport materiálu a vhodně zvolené stanovení. U preanalytické fáze je nutné dbát na správnou přípravu vzorku před analytickou fází (správná centrifugace, alikvotace). Kvalita preanalytické fáze je neustále diskutována a vylepšována. (JABOR, a další, 2020)

Druhá část teoretické části se zabývá vlivu hemolýzy séra nebo plazmy na některá analytická vyšetření v praxi. Hemolýza vzorků je nejčastější interference, kterou způsobuje uvolněný hemoglobin z erytrocytů. Hemolytické sérum je okometricky viditelné při koncentracích hemoglobinu nad 200 mg/l. Podle intenzity uvolněného hemoglobinu z červených krvinek dělíme hemolýzu do několika stupňů. Lehký stupeň hemolýzy není brán, jako velké ovlivnění měřících parametrů. Naopak těžká hemolýza do značné míry ovlivňuje řadu látek. Konkrétně se jedná o složky, které jsou obsaženy v erytrocytech a nenachází se volně v plazmě. (NOVÁK, 2002)

Další úsek této bakalářské práce je věnován praktické části, která je také rozdělena na dvě poloviny. První část se zabývá kvantitativním výzkumem, který je statisticky zpracován a vyhodnocen. Konkrétně jsem se zaměřila na jednu z částí preanalytické fáze – transport materiálu do laboratoře, který je v každé části Fakultní nemocnice v Plzni zcela rozdílný. Lochotínská část nemocnice využívá k internímu transportu materiálu potrubní poštu, zatímco v Borské části řídí distribuci vzorků sanitáři. Druhá část se zaměřuje na

hemolytická séra a kvalitativní ovlivnění naměřených hodnot u konkrétních metod. Pro zhodnocení této praktické části jsem se zaměřila především na ovlivnění draslíku, aspartátaminotransferázy, alaninaminotransferázy a laktátdehydrogenázy způsobenou hemolýzou. Cílem je zjistit do jaké míry ovlivňuje hemolýza výsledek laboratorního vyšetření.

Data pro praktickou část jsem čerpala z nemocničního systému Open LIMS, který využívá Fakultní nemocnice Plzeň. Soubor dat zahrnuje anonymizované údaje o veškerém materiálu, který byl přijat v lochotínské či borské části FN v Plzni. Veškerá data jsou zcela anonymní a zahrnují časové údaje o odběru a příjmu materiálu do laboratoře. Sběr dat je za období od 1. 9. 2020 do 1. 1. 2021.

# TEORETICKÁ ČÁST

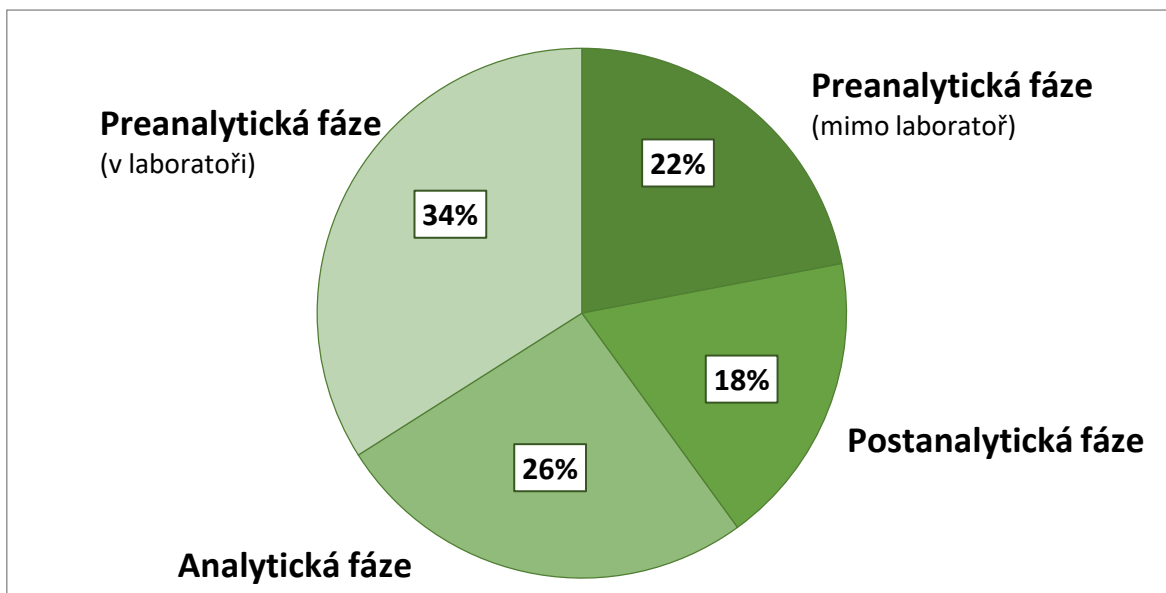
## 1 PREANALYTICKÁ FÁZE

Výsledek laboratorního vyšetření závisí nejen na kvalitě vlastní analýzy, ale i na řadě vlivů, které analýze vzorku předchází. Vše začíná u lékaře, který indikuje dané vyšetření pomocí žádanky a celý proces je zakončen výsledkem vyšetření. Tento interval času se označuje jako: „total turnaround time“ (TAT). Tato fáze se rozděluje do tří základních skupin, které nazýváme jako preanalytické, analytické a postanalytické. Jednotlivé fáze se liší potřebným TAT časem a počtem chyb (GUDER, 2015)

Výsledek vyšetření může být ovlivněn v jakékoli fázi laboratorního vyšetření. V *analytické fázi* se setkáváme s určitými chybami, které mohou negativně ovlivnit výsledek měření. K jejich eliminaci slouží základní analytické vlastnosti včetně vlastností klinických. Ty jsou řízeny zásadami správné laboratorní práce (SLP) a propracovaným systémem kontroly kvality. Do *postanalytické fáze* zahrnujeme především špatnou interpretaci či chybné zadání výsledků do nemocničního systému. (GUDER, 2015) (RACEK, c2006)

Nejdůležitější a nejdelší je fáze *preanalytická*. Dělí se na dvě části. V laboratoři a mimo laboratoř. Celkově zaujímá 56% z časové náročnosti (viz. graf1.). Pro správný laboratorní výsledek je důležitá nejen příprava pacienta, správný odběr materiálu a následný transport, ale i uchovávání a zpracování vzorku před samotným měřením. (RACEK, c2006)

Graf 1 Procentuální zastoupení jednotlivých fází laboratorního vyšetření podle časové náročnosti (průměrné hodnoty)



Zdroj: (RACEK, c2006 str. 23)

## 1.1 Osoba pacienta

V preanalytické části laboratorního vyšetření musíme brát v potaz samotnou osobou pacienta, s nímž je spojena celá řada ovlivnitelných i neovlivnitelných faktorů. Tyto faktory musíme nadále zohledňovat při správném hodnocení výsledků. (RACEK, c2006)

### 1.1.1 Faktory neovlivnitelné

Mezi neovlivnitelné faktory se řadí pohlaví, rasa a věk pacienta. Dále cyklické změny, současně probíhající jiné onemocnění či biologický poločas stanovované látky. U žen se musí zohlednit i probíhající gravidita. (RACEK, c2006)

#### 1.1.1.1 Pohlaví

V dětském věku jsou rozdíly hodnot mezi chlapci a děvčaty zcela minimální. Během puberty dochází k výraznějším změnám.

U řady metod je nerovnost referenční rozmezí pro muže a ženy zcela běžná. Tento rozdíl není dán pouze odlišnou koncentrací pohlavních hormonů, s čímž úzce souvisí složení cholesterolového spektra, ale i různou stavbou těla. Muži bývají zpravidla svalnatější než ženy a na základě tohoto rozdílu mají i odlišné parametry červeného krevního obrazu. Dále můžeme pozorovat jisté změny v aktivitě enzymů, kdy u mužů nacházíme vyšší aktivitu GGT, AST, ALP, CK. (ZIMA, c2013)

### **1.1.1.2 Rasa, etnická či sociální skupina obyvatel**

Výsledek laboratorního měření může být ovlivněn rasou pacienta. Tento rozdíl je znám především u vyšetření krevních skupin či výskytu určitých onemocnění. Některé hodnoty referenčních rozmezí jsou odlišné na základě rozdílné rasy člověka. Například u bělochů je stanovován větší počet granulocytů a menší aktivitu enzymu CK, než u příslušníků negroidní rasy. (RACEK, c2006) (ZIMA, c2013)

U různých etnických skupin může být ovlivněna frekvence výskytu určitých genů a tím pádem může docházet k rozdílným dědičným poruchám. V rámci sociální či etnické společnosti obyvatel mohou výsledky ovlivnit i stravovací návyky, které jsou typické pro danou skupinu. (RACEK, c2006)

### **1.1.1.3 Věk**

Věk je důležitý zohlednit při vyšetření aktivity enzymů (ALP, ACP). Tyto analyty, včetně koncentrace anorganického fosforu, souvisí s růstem kostry a tkání obecně. U dětí okolo 10-16. let věku dosahuje aktivita enzymu ALP svého maxima. S přibývajícím věkem opět klesá. Dále je nutné u dětí zohlednit výsledek vyšetření clearance kreatininu (korigováno hmotností nebo povrchem těla). (RACEK, c2006)

U žen ve fertilním věku bývá naměřena nižší koncentrace feritinu. Postupně se tato hodnota zvyšuje. (ZIMA, c2013)

### **1.1.1.4 Cyklické změny**

Určité analyty mění svoji hodnotu v závislosti na cirkadiánní, cirkanuální a cyklické změně.

Do *cirkadiánního* rytmu (denní – 24hod.) řadíme hormony (kortizol) i některé analyty (např. Fe, CB, Hb a vyšetření GF). Hodnota kortizolu je nejvyšší v ranních hodinách a během dne klesá. (RACEK, c2006)

Mezi *biologické změny* řadíme menstruační cyklus, kterému podléhá změna cholesterolu, železa ale i koncentrace hormonů. (ZIMA, c2013)

O *cirkanuálních změnách* nejsou zcela jasné informace. Těmto cyklům podléhá vitamín D, TAG, a některé enzymy s 5% výchytkou. (ZIMA, c2013)

Tabulka 1 Příklady laboratorních metod, jejíž výsledky podléhají diurnálnímu rytmu

Analyt	Maximum	Minimum	Rozdíl v %	Příčina
kreatinin	večer	ráno	až 50	fyzická aktivita
glomerulární filtrace	ráno	večer	až 80	oběhové změny
železo	6 – 9 h	22 – 24 h	25 (až 100)	neznámá; někdy inverzní rytmus
celková bílkovina	ráno	večer	až 30	hemokoncentrace ráno
hemoglobin	ráno	večer	15 – 30	hemokoncentrace ráno

Zdroj: (RACEK, c2006 str. 25)

### 1.1.1.5 Gravidita

Během těhotenství se v krvi matky objevují různé metabolity tvořené trofoblastem či orgány plodu. Placenta produkuje izoenzym zvaný placentární alkalická fosfatáza, která se fyziologicky zvyšuje od 16. týdne těhotenství (ve 3. trimestru může být koncentrace zvýšena až o  $\frac{1}{3}$ ). (DRECHSLEROVÁ, 2005)

Během těhotenství nastávají různé hormonální změny, které zapříčiní zvýšenou produkci inzulínu a následnou hypoglykémii. V druhé polovině těhotenství roste produkce hormonů (kortizol, prolaktin, glukagon), které zapříčiní inzulinorezistenci. (RACEK, c2006)

U těhotných žen můžeme pozorovat vliv hemodiluce a následný pokles Hb. Dochází také k poklesu koncentrace kreatininu a močoviny v séru, kvůli vzestupu glomerulární filtrace. (RACEK, c2006)

### 1.1.2 Faktory ovlivnitelné

Na výsledek laboratorního měření může mít vliv celá řada faktorů, které lze ovlivnit. Mezi tyto faktory se řadí fyzická aktivita, psychický stres, vliv jídla a pití, vliv alkoholu a kouření i některé léky. Při poučení pacienta o těchto faktorech, lze do určité míry minimalizovat možné ovlivnění laboratorního výsledku. (Kolektiv autorů, 2014).

#### 1.1.2.1 Fyzická aktivita

Změny se odvíjejí na základě provedené fyzické zátěži, síle intenzity (aerobní, anaerobní) či trénovanosti jedince. Z cév se přesouvá tekutina do mezibuněčného prostoru a v séru stoupá koncentrace CK, Hb, HTK. (RACEK, c2006)

Při anaerobní zátěži stoupá v krvi hodnota kyseliny mléčné (laktát) a klesá pH. Střední zátěž má za následek zvýšení koncentrace glukózy a následnou stimulaci sekrece inzulínu. Po vyčerpání glykogenových zásob dochází ke ketonurii. (ZIMA, c2013) (RACEK, c2006)

Díky uvolnění svalových bílkovin v krvi stoupá koncentrace myoglobinu a zvyšuje se také aktivita enzymů, které úzce souvisí se svalovou činností (AST, CK, LD). Po ukončení fyzické námahy se hladina jednotlivých analytů vrací do normálu různou rychlostí. (Laktát cca 10min., CK 3-5 dnů). Odběr pacienta by měl proto probíhat 24 – 48 hod. po fyzické zátěži. (RACEK, c2006)

### **1.1.2.2 Psychický stres a mechanické trauma**

Při stresových situacích dochází k vyplavení hormonů kůry a dřeně nadledvin (kortizol, adrenalin, glukagon), což vede k vzestupu glykémie a volných mastných kyselin či koncentrace bílkovin akutní fáze. Stres může vést i ke vzniku vředů, kvůli zvýšené sekreci žaludeční šťávy. (RACEK, c2006)

Za mechanické trauma můžeme považovat fyzické poškození tkáně (např. operace). Při řezu svalovou tkání dochází k vzrůstu aktivity svalových enzymů (CK, AST, ALT, koncentrace myoglobinu). Při vysokém stupni gravidity se zvyšuje aktivita ALT, vlivem tlaku dělohy. Příkladem mechanickým traumatem může být vzestup hodnoty PSA, po digitálním vyšetření prostaty. Dále mechanické poškození erytrocytů s následným vznikem hemolýzy (po maratonském běhu) či extrakorporální oběh nebo popáleniny. (Kolektiv autorů, 2014) (ZIMA, c2013)

### **1.1.2.3 Vliv potravy a tekutin**

Odpoledne a večer před odběrem by pacient neměl jíst tučná jídla a neměl by trpět žízní. Odběr pacienta na biochemické vyšetření by mělo probíhat ráno a nalačno. Pokud pacient nedodrží dané zásady, mohou nastat následující změny:

- vzestup glykémie
- vzestup koncentrace triglyceridů, volných mastných kyselin a změna cholesterolového spektra
- vzestup močoviny a kyseliny močové (při nadmíře proteinů ve stravě)

(DASYTCH, a další, 2008)

Koncentrace jednotlivých analytů, je po požití potravy, ovlivněna jinou procentuální chybou (viz. Tab. 2). (ZIMA, c2013)

Tabulka 2 Zvýšení sérové koncentrace po požití standardního jídla (za 2 hodiny)

Do 5 %	kyselina močová, albumin, vápník, močovina, sodík, cholesterol
Do 10 %	ALT, draslík
Do 20 %	Bilirubin, anorganický fosfor, glukóza, AST
Do 50 %	triacylglyceroly

Zdroj: (ZIMA, c2013 str. 6)

Uvedené změny přetrvávají různě dlouhou dobu. Při vzestupu hladiny triacylglycerolů dochází k chylozitě séra (mléčný zákal). Toto sérum ruší řadu laboratorních testů z analytického hlediska. Chylozita séra se vyčeří za několik hodin. Hodnota glykémie se po jídle u zdravého člověka normalizuje v rozmezí dvou hodin. U diabetiků může normalizace přetrvávat delší čas. (RACEK, c2006)

Vlivem dlouhodobých stravovacích návyků může být výsledek vyšetření zkreslen i jinými faktory. Při nadměře *proteinů* ve stravě dochází k vzestupu hladiny fosfátů, močoviny i kyseliny močové, naopak u stravy bohaté na *tuky* dochází ke snížení hodnoty pro kyselinu močovou. Dieta bohatá na *sacharidy* má za následek vzestup ALP a LD a pokles TAG, CB a cholesterolu. (ZIMA, c2013)

Strava výrazně ovlivňuje i pH moče. Vegetariáni mývají (vlivem přemíry zeleniny a ovoce) alkalickou moč, nízkou koncentraci cholesterolu, železa a vitamínu B<sub>12</sub>. Naopak lidé konzumující maso a tučné výrobky mývají acidickou moč. Koncentrace minerálů a sodíku v moči je dáno jejich zkonsumovaným množstvím. (RACEK, c2006)

Část biochemických testů vyžaduje, aby pacient před odběrem držel speciální dietu, jinak může být výsledek ovlivněn chybou. Např. u odběru stolice na okultní (skryté) krvácení je nutné dodržet tři denní masový půst. (RACEK, c2006)

Pacient by před odběrem měl vypít dostatek tekutin, aby odběr byl jednodušší. Doporučuje se ráno vypít sklenici čisté vody, neslazený čaj nebo neslazené minerálky. Výsledek poté nebude ovlivněn chybou způsobenou dehydratací (zvýšená hemokonzentrace). Pacient by se měl vyvarovat pití kofeinu, který může způsobit zvýšenou koncentraci glukózy. (RACEK, c2006) (ZIMA, c2013)



#### **1.1.2.4 Vliv kouření a alkoholu**

Kouření zásadně ovlivňuje koncentraci karboxylhemoglobinu a thiokyanatanů v séru. Uvolněný nikotin má za následek vyšší sekreci žaludeční šťávy, vyšší koncentraci cholesterolu, olova a kadmia. U kuřáků je prokázána nízká koncentrace imunoglobulinů a vitamínu B<sub>12</sub>. (RACEK, c2006) (ZIMA, c2013)

Pacient by neměl před odběrem na biochemické vyšetření konzumovat alkohol minimálně 24hod. před odběrem. Alkohol může mít značný vliv na některé vyšetřované analyty (zvýšené hladiny jaterních enzymů - ALT, AST, GGT). (RACEK, c2006)

#### **1.1.2.5 Vliv léků**

Jako léky může být brána i infúze roztoku glukózy, aminokyselin či tukových emulzí. Při vysoké rychlosti kapání infúze může být ovlivněna koncentrace v krvi. Ostatní léčiva mohou ovlivňovat biochemická vyšetření dvojím způsobem, buď působí na metabolismus stanovované látky (inhibice enzymů) nebo interferuje při vlastní chemické reakci (maskování glukózy či krve kvůli přítomné kyselině askorbové). (RACEK, c2006)

### **1.2 Odběr vzorku**

Na samotný odběr materiálu je kladen velký důraz. Správný odběr spočívá na době, kdy je pacient odebírán i v jaké poloze. Dále záleží na druhu odebírané krve a odebírací nádobky. Výsledek může být ovlivněn i různými přídávky (infúze) nebo technikou odběru. (RACEK, c2006)

#### **1.2.1 Zásady správného odběru krve**

S každým vzorkem se musí zacházet jako s potencionálně infekčním a i tak se k němu musí přistupovat. Nejdůležitější zásada při odběru je správné označení odebírací nádobky jménem pacienta (čárový kód, štítek apod.), aby při transportu a následné analýze nedošlo k záměně. Podle typu odebíraného materiálu je nutné myslet i na způsob odběru. Důležité je i následné poučení pacienta po odběru. (ZIMA, c2013)

#### **1.2.2 Odběrová nádobka**

Nejčastěji používaná nádobka je zkumavka, která je vyrobena z plastu a je na jedno použití. Krev se v plastické zkumavce nedokonale sráží a často dochází k hemolýze. Výrobce proto stěny zkumavky vybavuje vrstvou kaolinu, což umožní rychlejší srážení krve. Některé zkumavky jsou vybaveny speciálním inertním gelem, který díky své speciální hustotě, napomáhá oddělit sérum od krvinek. (RACEK, c2006)

### **1.2.3 Poloha pacienta**

Velmi důležitá je samotná poloha pacienta, která může ovlivnit koncentraci řady látek. Nejčastěji odebíráme materiál u ležícího pacienta. Změna polohy z lehu do stoje zapříčiní až 10% snížení krevního objemu a současně dojde i k vzestupu koncentrace proteinů. Při opakovaných odběrech by se poloha pacienta měnit neměla. U starších pacientů jsou změny výraznější. (ZIMA, c2013) (RACEK, c2006)

### **1.2.4 Chyby při odběru**

Nejčastějším důsledkem chyb při odběru bývá hemolýza. Při odebírání nesrážlivé plné krve (na hematologické vyšetření) může dojít ke sražení vzorku. Nejčastější chyby při odběru jsou:

- nevhodná zkumavka (s nevhodným činidlem)
- dlouhé stažení paže (vzestup laktátu, draslíku a aktivity CK)
- jehla s malým průsvitem, velký podtlak při nasávání krve (mechanická hemolýza)
- dezinfekce místa vpichu (alkoholová dezinfekce může zkreslit výsledek na stanovení koncentrace alkoholu v krvi)
- nedostatečný objem vzorku, nedodržení poměru mezi krví a aditivy
- nedostatečné promíchání krve ve zkumavce s činidly, prudké třepání zkumavky

(BUNEŠOVÁ, a další, 2008), (RACEK, c2006)

### **1.2.5 Druhy odběru krve**

Odběry krve jsou prováděny nejčastěji všeobecnými sestrami. Paže by neměla mít jizvy ani hematomy. (ZIMA, c2013)

#### **1.2.5.1 Odběr venózní krve**

Obvykle se odebírá žilní krev z loketní jamky. K odběru se využívá kubitální žíla ve fossa antibrachii nebo žíly v loketní jamce. (ZIMA, c2013). (PECKA, 1995) (NAVRÁTIL, 2003)

### **1.2.5.2 Odběr kapilární krve**

Kapilární odběr krve se provádí z bříška prstu. U novorozenců se krev odebírá z patičky. Při takovémto odběru je důležité dávat pozor na vznik hemolýzy při delším styku krve s dezinfekčním roztokem. U vymačkávání krve může dojít k naředění materiálu tkáňovým mokem. (RACEK, c2006)

### **1.2.5.3 Odběr arteriální krve**

Odběr tepenné krve je značně obtížnější než u žilního odběru, jelikož tepny jsou uloženy hlouběji než žíly. Arteriální krev slouží na vyšetření krevních plynů, proto je nejdůležitější anaerobní odběr (bez bublin). (RACEK, c2006)

### **1.2.5.4 Odběr arterializované krve**

Arterializovaná krev se odebírá po důkladném zahřátí místa odběru. Nejčastěji se odebírá z ušního lalůčku. Odběr musí probíhat anaerobně, jelikož se tato krev využívá také na stanovení krevních plynů, stejně jako krev arteriální. (RACEK, c2006)

### **1.2.6 Vyšetření z nesrážlivé krve a plazmy**

Nesrážlivá krev se využívá na různá klinicko-biochemická vyšetření. Analýza se nejčastěji provádí z celé krve (ABR, glykémie), z erytrocytů (glykovaný hemoglobin, kalium) nebo z plazmy (fibrinogen, ACP). Nejčastější chyba při odebírání nesrážlivé krve spočívá v nedodržení poměru odebrané krve a antikoagulačního činidla. Další z častých chyb je prudké třepání se zkumavkou, kdy dochází k mechanické hemolýze. Podle požadovaného testu se musí zvolit i správný protisrážlivý prostředek. (RACEK, c2006)

## **1.3 Transport vzorku**

Transport vzorku do laboratoře je poslední částí z preanalytické fáze. Přeprava materiálu může být zajištěna zdravotnickým personálem nebo potrubní poštou. Transport by měl být šetrný, rychlý a měli by u něj být dodrženy zásady transportu biologického materiálu. (RACEK, c2006)

Krev by měla být do laboratoře zaslána do 2h po odběru, aby se oddělilo sérum od krvinek. Je nutné zajistit i adekvátní teplotu pro transport. Ideální teplota pro transport je okolo +4°C, při této teplotě se zabrání úniku kalia z buněk, jelikož tento enzymový děj s poklesem teploty ustává. K tomu slouží temperované termoboxy. (ZIMA, c2013)

Při vyšetření některých analytů (amoniak, krevní plyny) je nutný transport na tajícím ledu. U vyšetření na bilirubin musíme vzorek chránit před přímým světlem. (ZIMA, c2013)

Pokud nelze materiál transportovat co nejrychleji, je vhodnější použití zkumavek se separačním gelem a materiál centrifugovat před transportem. Centrifuguje se při 1000-1500 otáčkách. Doba separace by neměla přesáhnout 10min. jinak vzniká hemolýza. (ZIMA, c2013)

#### **1.4 Uchovávání a stabilita vzorku**

Uchovávání a stabilita vzorku je stejně důležitá jako transport. Pokud krev delší dobu stojí při pokojové teplotě, dochází k vyčerpání energetických zdrojů erytrocytů (glukóza) a to zapříčiní hyperkalémii. Proto se musí co nejrychleji oddělit sérum/plazma od krevních elementů. Pokud není vzorek zpracován ihned, je možné ho uchovat při chladničkové teplotě (+4°C), kdy řada enzymů i analytů zůstane stabilní několik dní po odběru. Pro dlouhodobé skladování proteinů se doporučuje vzorek zmrazit na -20°C. Vzorek ve zkumavce musí být dobře uzavřen, aby nedošlo k odpařování, bakteriální kontaminaci či difúzi plynů. Chemická konverzace se zpravidla dělá při odběru moče. (RACEK, c2006) (ZIMA, c2013)

## **2 KREV**

Krev proudí uzavřeným cévním systémem. Má specializované složení a může se dělit na dvě základní části. Část buněčnou a tekutou, poměr mezi těmito částmi se nazývá hematokrit. Mezi základní funkce krve patří transport a nepřetržitá výměna látek mezi buňkami. Udržuje homeostázu. (PECKA, 1995)

### **2.1 Krevní elementy**

Krevní buňky neboli korpuskule, se nachází v buněčné části krve. Zaujímají cca 45% z celkového objemu krve. Mezi krevní elementy řadíme červené krvinky, bílé krvinky a krevní destičky. (NAVRÁTIL, 2003)

#### **2.1.1 Erytrocyty**

Červené krvinky jsou bezjaderné elementy. Hlavní funkcí je přenos  $O_2$  a  $CO_2$ . Zralý erytrocyt má bikonkávní tvar a jeho jedinou buněčnou strukturu tvoří cytoplazmatická membrána. (PECKA, 1995)

#### **2.1.2 Leukocyty**

Bílé krvinky mají schopnost ničit viry, bakterie, plísňe, cizorodé částice i nádorové buňky. Podle jádra se dále dělí na polymorfonukleáry a mononukleáry. Leukocyty zajišťují nespecifickou i specifickou imunitní odpověď. (PECKA, 1995)

#### **2.1.3 Trombocyty**

Krevní destičky jsou bezjaderné elementy, které vznikají z úlomků cytoplazmy megakaryocyty. Hlavní funkce destiček je krevní srážení. (PECKA, 1995)

### **2.2 Krevní plazma**

Plazma je extracelulární, lehce nažloutlá, čirá tekutina. Představuje 55% z celkového objemu krve. Obsahuje organické i anorganické látky. Získává se centrifugací nesrážlivé krve. (PECKA, 1995)

### **2.3 Biochemické vyšetření krve**

V laboratořích z hlediska rychlosti provedení dělíme vzorky na rutinní (základní), statimová (upřednostňují se před rutinními) a z vitální indikace (výsledek může mít vliv na přežití pacienta), dále podle dostupnosti na základní, specializovaná a vysoce specializovaná vyšetření. (WikiSkripta, c2018)

### 2.3.1 Druhy vyšetřované krve

Biochemická analýza krve se provádí z plné krve, séra nebo plazmy. Podle typu vyšetření a druhu vyšetřované krve je určena zkumavka. Při špatně zvolené zkumavce se odběr krve automaticky znehodnocuje a je nutné krev nabrat znova. (ŠAMÁNKOVÁ, 2006)

#### 2.3.1.1 Plná krev

Odběr plné krve se nabírá do zkumavky s protisrážlivým činidlem. Z plné krve lze vyšetřit plazmu, červené krvinky i krevní destičky. Plná krev je vhodná na vyšetření krevní skupiny dárce, kde se krev odebírá do speciálních krevních vaků. Plná krev je především využívána při vyšetření krevního obrazu nebo diffu. V biochemické laboratoři se vyšetření plné krve využívá především ke stanovení glykovaného hemoglobinu, sérologii hepatit, nebo na stanovení koncentrace takrolimu, sirolimu, cyklosporinu či mykofenolátu. (ŠAMÁNKOVÁ, 2006) (RACEK, c2006) (ÚKBH FN Plzeň, 2003)

*Obrázek 1 Zkumavka na odběr plné krve*



*Zdroj: [https://ukbh.fnplzen.cz/sites//users/ukbh/obrazky/zkumavky/454034\\_001.jpg](https://ukbh.fnplzen.cz/sites//users/ukbh/obrazky/zkumavky/454034_001.jpg)*

#### 2.3.1.2 Sérum

Při delším stání zkumavky s plnou krví (20-30min.) dojde ke krevnímu sražení a vznikne tak krevní sérum. Při krevním srážení se z erytrocytů uvolňují různé látky, které jsou přítomny v jejich cytoplasmě. Díky tomu bývá krevní sérum častěji hemolytické. V krevním séru není přítomen fibrinogen ani další koagulační faktory, naopak u séra bývá naměřena vyšší aktivita ACP nebo vyšší koncentrace draslíku. To bývá častěji způsobeno rozpadem trombocytů. (RACEK, c2006) (KELNAROVÁ, 2009)

Pro rychlé sražení a následnou separaci krve a séra se využívají zkumavky se separačním gelem. Při odběru srážlivé krve je nutné zajistit rychlý transport do laboratoře. Sérum se nejčastěji využívá na všechna biochemická vyšetření, především ELFO sérových bílkovin, Li, VLŘ. Nehodí se na vyšetření Troponinu T. (KELNAROVÁ, 2009) (ÚKBH FN Plzeň, 2003)

*Obrázek 2 Zkumavka na odběr séra*



*Zdroj: [https://ukbh.fnplzen.cz/sites//users/ukbh/obrazky/zkumavky/454225\\_001.jpg](https://ukbh.fnplzen.cz/sites//users/ukbh/obrazky/zkumavky/454225_001.jpg)*

### **2.3.1.3 Plazma**

Pro získání krevní plazmy se krev nabírá do zkumavek, které obsahují antikoagulační činidla. Po odběru je důležitým krokem promíchání krve s příslušným antikoagulantem, aby se krev nesrazila. Se zkumavkou se nesmí třepat, jinak může dojít k mechanické hemolýze. Krevní plazma, na rozdíl od krevního séra, obsahuje koagulační faktory včetně fibrinogenu. Plazma se odebírá do zkumavky nejčastěji s heparinátem lithným. Výhoda tohoto koagula spočívá v tom, že se hodí biochemická vyšetření.

Heparinovou plazmu nelze využít k vyšetření ELFO sérových bílkovin, serologii hepatit či vyšetření glykovaného hemoglobinu. Dále není vhodná na stanovení glukózy v plazmě, oGTT či stanovení koncentrace laktátu. Na tyto analyty se používá plazma z šedé zkumavky, která obsahuje fluorid sodný, který brzdí glykolýzu. (ŠAMÁNKOVÁ, 2006) (KELNAROVÁ, 2009) (ÚKBH FN Plzeň, 2003)

Obrázek 3 Zkumavka na odběr plazmy



Zdroj: [https://ukbh.fnplzen.cz/sites//users/ukbh/obrazky/zkumavky/454046\\_001.jpg](https://ukbh.fnplzen.cz/sites//users/ukbh/obrazky/zkumavky/454046_001.jpg)

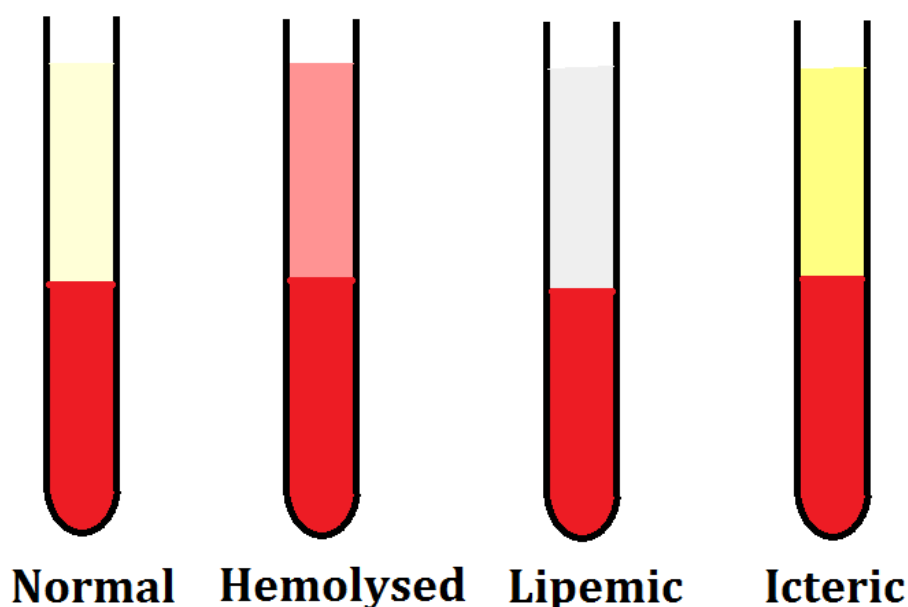
### 2.3.2 Interference při vyšetření krve

Při laboratorním vyšetření se setkáváme s různými druhy endogenních i exogenních látek, které způsobují interferenci. Interference se dá definovat jako „účinek látky přítomné ve vzorku, který mění správnou hodnotu výsledku, obvykle vyjádřenou jako koncentrace nebo aktivita, pro analyt.“ (KROLL, a další, 1994).

Nejčastější endogenní látky způsobující interferenci jsou: hemoglobin, bilirubin a lipidy. Tyto látky způsobují charakteristické zabarvení séra a na základě způsobené barvy mohou negativně ovlivnit správnost laboratorního výsledku. Nejčastěji jsou pozorovány interference, které způsobují chylozitu, ikteritu nebo hemolýzu patientského séra. Hemolytické vzorky je třeba odmítnout vyšetřit (pokud se nejedná o intravenózní hemolýzu) a musí být požádáno o nový náběr. V případě ikterických sér, nový náběr nepomůže, jelikož bilirubin odstranit v laboratoři nelze. U chylózních sér se dá sérum vyčeřit pomocí chemie. Kdy se do chylózního séra přidá Lipoclear a vzorek se poté centrifuguje při 17000 ot. /min. (= ultracentrifugace). (KROLL, a další, 1994)



Obrázek 4 Porovnání séra/plazmy



Zdroj: <https://laboratoryinfo.com/wp-content/uploads/2016/07/Hemolysed-Lipemic-Icteric-Samples.png>

### 2.3.2.1 Ikterita

Ikterita vzorku může být způsobena vysokou koncentrací bilirubinu. Hyperbilirubinémie vzniká následkem zvýšené produkce bilirubinu, nebo naopak nedostatečným vylučováním. Často se s ikterickým vzorkem setkáváme u pacientů, kteří trpí onemocněním jater, obstrukcí žlučových cest nebo hemolytickou anémií. Ikterické sérum nebo plazma je zbarvená slámově žlutým tónem. Obsah bilirubinu ve vzorku může reagovat s chemickými látkami nebo činidly, což by vedlo ke snížení analytu ve vzorku. Ikterický vzorek není vhodný na řadu stanovení např. stanovení cholesterolu, triglyceridů nebo kreatininu. Ikterické zbarvení může interferovat se spektrálními metodami. (GIRI, 2020)

### 2.3.2.2 Chylozita

Lipémie je způsobená nadbytečnou koncentrací lipidů v krvi. Zvýšená koncentrace lipoproteinů, především chylomikronů a VLDL částic, způsobuje - mléčný „chylózní“ zákal séra. Díky mléčnému zákalu není chylózní vzorek vhodný na řadu stanovení, jelikož takovýto vzorek není homogenní. Lipémie způsobuje řadu fyzikálních i chemických interferencí. (GIRI, 2020)

### **2.3.2.3 Hemolýza**

Hemolýza séra může být způsobena několika faktory. Jedná se o nejčastější interferenci, která způsobuje červené zbarvení séra nebo plazmy. Červená barva séra je způsobena díky rozpadu červených krvinek a následným uvolněním hemoglobinu a intracelulárních složek do plazmy. Příčiny hemolýzy jsou různorodé a dají se dělit na intravaskulární nebo extravaskulární. Hemolýza stejně jako ikterita způsobuje interferenci spektrofotometrických metod. (GIRI, 2020)

## 3 HEMOLÝZA

Jak už bylo zmiňováno v předešlé kapitole, hemolýza se řadí mezi nejčastější příčinu analytické interference. Vyznačuje se červeným zbarvením séra, které způsobuje uvolněný hemoglobin, který se vylil při rozpadu erytrocytů. Podle intenzity zbarvení lze vizuálně stanovit stupeň vzniklého zbarvení. Normální sérum nebo plazma má slabě nažloutlou barvu. (DASYTCH, a další, 2008)

### 3.1 Vznik hemolýzy

Hemolýza může vzniknout dvěma různými způsoby a na základě její příčiny vzniku jí i dělíme na hemolýzu intravaskulární (in vivo) nebo extravaskulární (in vitro). (JINDROVÁ, a další, 2012)

#### 3.1.1 Intravaskulární hemolýza

Intravaskulární hemolýza je vzácnějšího typu a má za následek vážné ohrožení života pacienta. In vivo hemolýza nastává přímo v těle pacienta a tvoří necelá 2% prokázané hemolýzy v laboratoři. Jako důsledek vzniku intravaskulární hemolýzy bývá zvýšená fragilita erytrocytů. Spolehlivým laboratorním ukazatelem je snížená koncentrace haptoglobinu, zvýšená koncentrace nekonjugovaného bilirubinu a zároveň vysoký počet retikulocytů. (HEIREMAN, a další, 2017)

##### 3.1.1.1 Příčiny intravaskulární hemolýzy

Mezi nejčastější příčiny in vivo hemolýzy lze zařadit:

- metabolické vlivy (např. onemocnění jater)
- chemické vlivy (léky)
- fyzikální vlivy (mechanismus srdeční chlopně)
- infekční vlivy
- diseminovaná intravaskulární koagulace
- rozsáhlé popáleniny
- hemolytická anemie
- transfúze krve

(JINDROVÁ, a další, 2012)

### 3.1.2 Extravaskulární hemolýza

Extravaskulární hemolýza bývá způsobena špatným zacházením či nesprávným odběrem materiálu. Nejčastější příčiny in vitro hemolýzy lze rozdělit do čtyř kategorií a každá kategorie je způsobena různými vlivy. (HEIREMAN, a další, 2017)

#### 3.1.2.1 Příčiny extravaskulární hemolýzy

Mezi nejčastější příčiny in vitro hemolýzy řadíme:

- Mechanická příčina – ke které dochází při mísení krve ve zkumavce s antikoagulačním činidlem. Při nadměrném třepání se zkumavkou může dojít k porušení cytoplazmatické membrány erytrocytů a následnému vzniku hemolýzy
- Termická příčina – je vyvolána vlivem extrémních teplot (mráz, horko)
- Chemická příčina – způsobuje znečištěná jehla, či nedostatečně zaschlá dezinfekce pokožky (krev stéká prvotně po kůži, poté do zkumavky)
- Osmotická příčina – bývá zapříčiněna hypotonickým nebo hypertonickým prostředím

(JINDROVÁ, a další, 2012)

Tyto příčiny vznikají nešetrným odběrem nebo komplikacemi během odběru krve. Jako další faktory, které mohou způsobit hemolýzu séra, můžeme považovat samotný transport materiálu do laboratoře nebo nezbytnou centrifugaci.

Transport může mít negativní dopad na vzorek zejména při překročení transportního limitu pro přepravu. U vzorků, které se do laboratoře dopraví déle než za 2 hodiny, můžeme pozorovat zejména při následné centrifugaci větší výskyt hemolyzovaných vzorků. (HEIREMAN, a další, 2017)

### 3.2 Důsledky hemolýzy

Hemolýza způsobuje řadu chyb, které mohou být falešné a tím pádem zamezují správnému klinickému rozhodování. (JABOR, a další, 2020)

Jedna z chyb poukazuje na vyplavený hemoglobin při rozpadu červených krvinek. Hemoglobin je červené krevní barvivo a na základě jeho zbarvení ovlivňuje

spektrofotometrické metody (end-point). Červená barva způsobuje absorpenci zejména při měření vlnových délek viditelného světla v rozmezí 300 – 500 nm. Uvolněný hemoglobin dále chemicky reaguje s některými složkami a způsobuje interference při stanovení bilirubinu. Hemoglobin se také chová jako pufr, zejména při stanovení albuminu, kde mění pH činidla. (JABOR, a další, 2020) (DASYTCH, a další, 2008)

Další z častých chyb je zvýšená koncentrace intracelulárních látek. Koncentrace intracelulárních látek je 10x nižší než koncentrace v plazmě/séru. Vlivem hemolýzy dochází ke zvýšení koncentrace draslíku (K), laktátdehydrogenázy (LD), aspartátaminotransferázy (AST) a alaninaminotransferázy (ALT). Vysoká koncentrace draslíku v séru způsobená hemolýzou může negativně ovlivnit výslednou diagnózu pacienta. Hyperkalémie nad 6,5 mmol/l je častou indikací k dialýze, ale hodnoty nad 10 mmol/l jsou pro člověka smrtelné. U extracelulárních látek nastává naopak snížení jejich koncentrace z důvodu jejich naředění intracelulární tekutinou. Jedná se zejména o glukózu, chloridy, bilirubin, albumin, alkalickou fosfatázu (ALP) a gamaglutamyltransferázu (GGT). (HEIREMAN, a další, 2017)

### 3.2.1 Analyty podléhající hemolýze

Klinicky významným ukazatelem hemolýzy je koncentrace hemoglobinu nad 0,5 g/l (akceptovaná koncentrace hemoglobinu v séru je 0,22 – 0,25 g/l a v plazmě 0,10 – 0,13 g/l). Následující tabulka dělí hemolýzu do pěti stupňů podle naměřené koncentrace hemoglobinu v séru. (JABOR, a další, 2020)

*Tabulka 3 Stupně hemolýzy*

Stupeň intenzity	Hemoglobin v g/l	Ovlivněné metody
1 velmi slabá	0,50 - 0,99	LD, K, AST, Bil., Fe, Mg
2 slabá	1,00 - 1,99	ALP, CK
3 střední	2,00 - 2,99	AMS, Cl, Na, CB, ALB, urea
4 silná	3,00 - 3,99	ALT, GGT, P, laktát
5 velmi silná	> 5,00	všechny ostatní

Zdroj: <https://slideplayer.cz/slide/13551838/83/images/11/Hemol%C3%BDza+1+velmi+slab%C3%A1+2+slab%C3%A1+3+st%C5%99edn%C3%AD+4+siln%C3%A1+5+velmi+siln%C3%A1.jpg>

### **3.2.2 Hemolytický index**

Hemolytický index hodnotí stupeň vzniklé hemolýzy. Dříve se hemolýza hodnotila pouze vizuálně, což mělo za následek nejednotné a nespolehlivé hodnocení. Hemolytický index (HI) je kvantitativní metoda, která objektivně měří index hemolýzy. Některé analyzátory tento index využívají k rychlému zhodnocení stupně hemolýzy ve vzorku. Měření hemolytického indexu není standardizováno a proto má každý přístroj uveden referenční rozmezí hemolytického indexu. Dnešní měření hemolytický indexů se měří na základě výpočtu změřené absorbance při různých vlnových délkách. Hodnota hemolytického indexu, která je rovna 300, semikvantitativně odhaduje hemolýzu v séru, která při této hodnotě odpovídá přibližně koncentraci hemoglobinu 3000mg/l. (ISHIGURO, a další, 2020) (KOMRSKOVÁ, a další, 2018)

### **3.3 Interpretace hemolytických vzorků**

Dodnes neexistují korekční faktory na koncentraci hemoglobinu v plazmě a na základě toho nelze ovlivněné výsledky vydat. Hemolýza séra působí na naměřené výsledky a ovlivňuje jejich skutečné koncentrace, buď jejich snížením, nebo naopak zvýšením. U změřených a ovlivněných výsledků s hemolýzou, se na základě změřeného hemolytického indexu, ukáže v laboratorním systému u dané metody textová zpráva – HEMOLÝZA. Výsledek tudíž nelze vydat. Nejjednodušším řešením je zažádat o nový náběr vzorku. Pokud to okolnosti nedovolují, je velmi důležitá komunikace lékaře s laboratoří o konkrétním pacientovi, kterému náleží hemolytický vzorek. Konečné výsledky lze upravit podle odhadovaného stupně hemolýzy, což může být užitečné pro stanovení včasné diagnózy. Tento matematický krok může vést ke zkreslení výsledku a je nutné tento krok zapsat do laboratorního systému. (JABOR, a další, 2020) (HEIREMAN, a další, 2017)

# PRAKTICKÁ ČÁST

## 4 CÍLE, DÍLČÍ CÍLE A PŘEDPOKLADY

### 4.1 Hlavní cíl

#### 4.1.1 Kvalitativní výzkum

Statistické zpracování údajů o transportu materiálu do laboratoře za období 1. 9. 2020 – 31. 12. 2020.

#### 4.1.2 Kvantitativní výzkum

Zhodnocení vlivu hemolytického séra na výsledky biochemického vyšetření za období 1. 1. 2021.

### 4.2 Dílčí cíle

#### 4.2.1 Kvalitativní výzkum

1. Porovnat časy odběru a příjmu, který trval přes dvě hodiny.
2. Porovnat delší čas transportu mezi dvěma částmi Fakultní nemocnice v Plzni.

#### 4.2.2 Kvantitativní výzkum

1. Vyhodnotit rozdíl mediánů u zvolených metod.
2. Vyhodnotit mediánové rozdíly a vypočítat statistickou významnost pomocí Wilcoxonova testu.

### 4.3 Předpoklady

#### 4.3.1 Kvalitativní výzkum

1. Předpokládáme, že transport materiálu do laboratoře nepřekročí dobu delší jak 2 hodiny.
2. Předpokládáme, že transport materiálu z části Lochotín bude průměrně kratší než v části Bory.

#### 4.3.2 Kvantitativní výzkum

1. Předpokládáme, že slabá hemolýza séra zásadně neovlivňuje výsledek biochemického vyšetření.
2. Předpokládáme, že výpočet Wilcoxonova testu bude značit statistickou významnost.

## **5 VÝZKUMNÉ OTÁZKY**

### **5.1 Kvalitativní výzkum**

VO1: Lze prokázat, že potrubní pošta je rychlejší a spolehlivější v distribuci vzorků do laboratoře?

VO2: Lze prokázat, že vznik hemolytického séra úzce souvisí se systémem potrubní pošty?

### **5.2 Kvantitativní výzkum**

VO1: Lze prokázat, že ovlivnění výsledků slabou hemolýzou je statisticky významný faktorem?



## 6 METODIKA PRÁCE

Metodika mé bakalářské práce byla zvolena s pomocí Ing. Kateřiny Bršlicové, kdy jsme společně praktickou část rozdělili na dva výzkumy.

První výzkum se věnuje kvalitativnímu sběru dat ze dvou částí Fakultní nemocnice v Plzni, které jsme statisticky zpracovali a zaměřili se na jeden z mnoha problémů preanalytické části a to konkrétně na transport materiálu. Transport vzorků je v obou částech nemocnic zcela rozdílný. V lochotínské části se materiál transportuje pomocí potrubní pošty, naopak v Borské části se materiál dopravuje pomocí nemocničního personálu.

Druhý výzkum detailně popisuje vliv hemolýzy séra na jednotlivá biochemická vyšetření. Slabá hemolýza do jisté míry ovlivňuje především stanovení koncentrace draslíku ( $K^+$ ), aspartátaminotransferázy (AST) i laktátdehydrogenázy (LD). Tyto měřené analyty bývají často zvýšené vlivem uvolněných látek při vzniku hemolýzy. Naopak koncentrace glukózy, chloridů či gamaglutamyltransferáza (GGT) bývá snížena. Cílem tohoto výzkumu je zjistit rozdíl mediánů, mezi jednotlivými boxploty u vzorků s hemolytickými vzorky v různých stupních hemolýzy, a určit statistickou významnost pomocí Wilcoxonova testu. Hodnota  $p$  (= pravděpodobnost), je pro tento výzkum, statistická významnost rozdílů mediánu vzorků bez hemolýzy a s hemolýzou. Za statisticky významné se považuje vypočítaná hodnota  $p$ , která musí být rovna či nižší než 0,05. Za silně statisticky významné se považují hodnoty  $p$ , které jsou nižší nebo rovno 0,01. Hlavním cílem tohoto výzkumu je zjistit o kolik jednotek se liší hodnoty změřených analytů u pacientů s hemolytickými vzorky, kteří byli nabráni a změřeni tentýž den a v novém náběru již nebyla hemolýza prokázána.

Veškerá data mi poskytla Fakultní nemocnice v Plzni. Všechny použité údaje jsou zpracovány zcela anonymně.

## **7 KVALITATIVNÍ VÝZKUM**

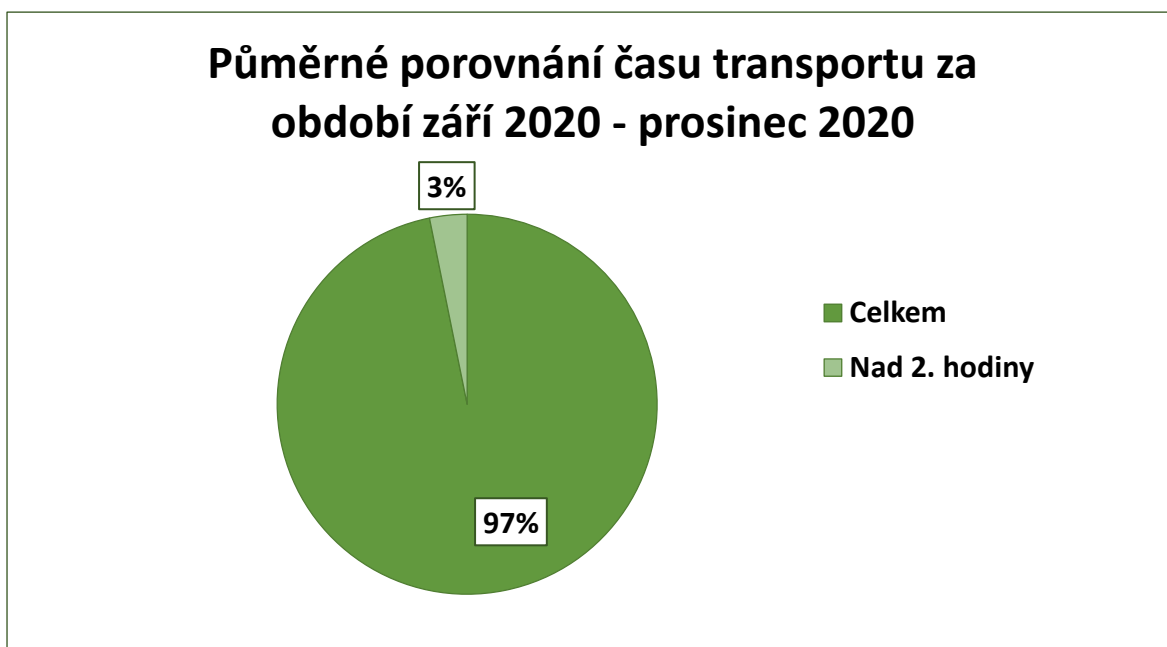
Do kvantitativního výzkumu jsme zahrnuli anonymizovaná data z nemocničního systému Open LIS. Data obsahují údaje o času odběru materiálu a následném času příjmu vzorku do laboratoře. Sběr dat je proveden za období čtyř po sobě jdoucích měsíců a to konkrétně od 1. 9. 2020 do 31. 12. 2020. V následujících grafech a tabulkách jsou statisticky zpracovaná data o transportu vzorků ze dvou částí Fakultní nemocnice v Plzni.

## 7.1 Porovnání času transportu materiálu nad 2 hod.

### 7.1.1 Celkové porovnání transportu materiálu za jedno čtvrtletí

Do laboratoře bylo za celkové období (září 2020 – prosinec 2020) přijato celkem 49 692 vzorků materiálu.

Graf 2 Průměrné porovnání transportu materiálu za období září 2020 – prosinec 2020



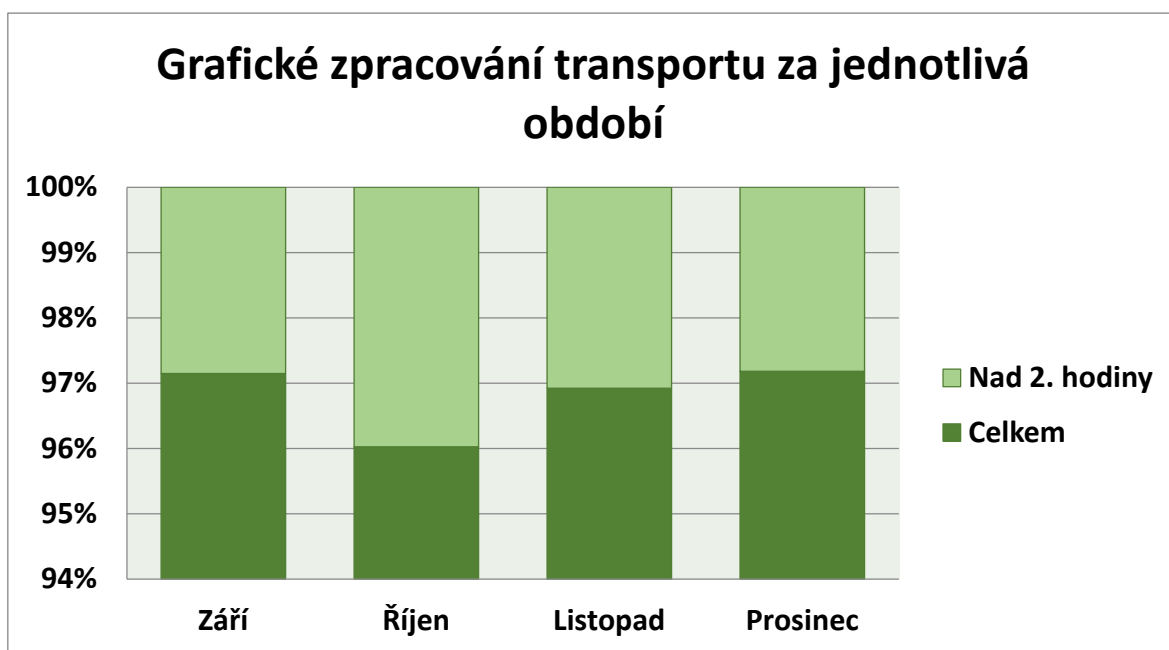
Zdroj: vlastní

Z grafu 2 je patrné, že materiál je do laboratoře transportován ve správný čas pouze z 97%. Do tohoto statistického zpracování jsou zahrnuta data z obou částí Fakultních nemocnic v Plzni a to za jedno čtvrtletí.

### 7.1.2 Celkové porovnání transportu materiálu za jednotlivé měsíce

Transport materiálu se v každém zvoleném měsíci mírně lišil. Nejvíce materiálu bylo do laboratoře přijato v měsíci září, naopak nejméně materiálu bylo přijato v měsíci prosinec.

Graf 3 Grafické zpracování transportu za jednotlivá období



Zdroj: vlastní

Graf 3 poukazuje na celkové procentuální zastoupení chybného transportu, který přesáhl limit 2 hodin. Následující tabulka detailně shrnuje veškerá provedená statistická šetření.

Tabulka 4 Četnost dat pro jednotlivá období

	Absolutní četnost		Relativní četnost	
	Celkem	Nad 2 hod.	Celkem	Nad 2 hod.
<b>Září</b>	14 309	420	97,06%	<b>2,94%</b>
<b>Říjen</b>	12 542	519	95,86%	<b>4,14%</b>
<b>Listopad</b>	11 498	365	96,83%	<b>3,17%</b>
<b>Prosinec</b>	11 343	329	97,10%	<b>2,90%</b>
				<b>Průměr = 3,29%</b>

Zdroj: vlastní

Tabulka č. 4 zobrazuje četnost dat za jednotlivá období. Z tabulky č. 4 lze vypočítat, že četnost chyb je ve všech měsících přibližně stejná. Relativní četnost se

mění v závislosti na počtu přijatých vzorků za daný měsíc. Nejdelší časový limit pro transport materiálu do laboratoře byl zaznamenán v měsíci říjen. V obou částech Fakultních nemocnic v Plzni je transport materiálu stanoven do 2 hodin po odběru. Tato preanalytická chyba může mít za následek možné ovlivnění některých výsledků biochemického vyšetření. Nejčastěji dochází k ovlivnění glukózy, draslíku, fosforu, homocysteinu nebo kyseliny listové.

## 7.2 Porovnání časového limitu u transportu materiálu do laboratoře a četnost hemolytických sér mezi dvěma částmi Fakultní nemocnice v Plzni za jednotlivá období

### 7.2.1 Data za období září

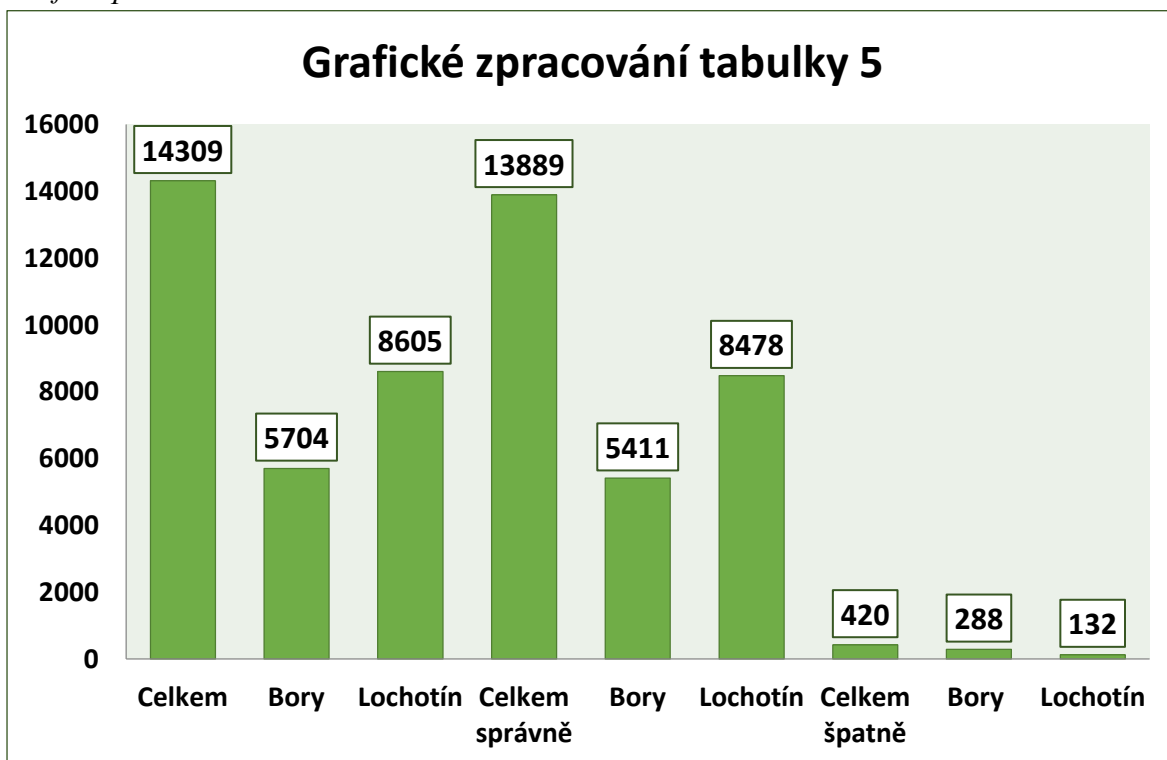
V měsíci září (období od 1. 9. 2020 – 30. 9. 2020) bylo do laboratoře přijato celkem 14 309 vzorků. Časový limit pro transport byl překročen u 2,94% přijatých vzorků. Následující tabulka vykazuje četnost dat pro jednotlivé části Fakultní nemocnice v Plzni.

Tabulka 5 Četnost dat pro měsíc – září 2020

	Četnost vzorků celkem		Četnost vzorků správně		Četnost vzorků špatně	
	Absolutní	Relativní	Absolutní	Relativní	Absolutní	Relativní
Bory	5 704	39,86%	5 411	38,96%	288	68,57%
Lochotín	8 605	60,14%	8 478	61,04%	132	31,43%
<b>Celkem</b>	<b>14 309</b>	<b>100%</b>	<b>13 889</b>	<b>100%</b>	<b>420</b>	<b>100%</b>

Zdroj: vlastní

Graf 4 Zpracování dat za měsíc – září 2020



Zdroj: vlastní

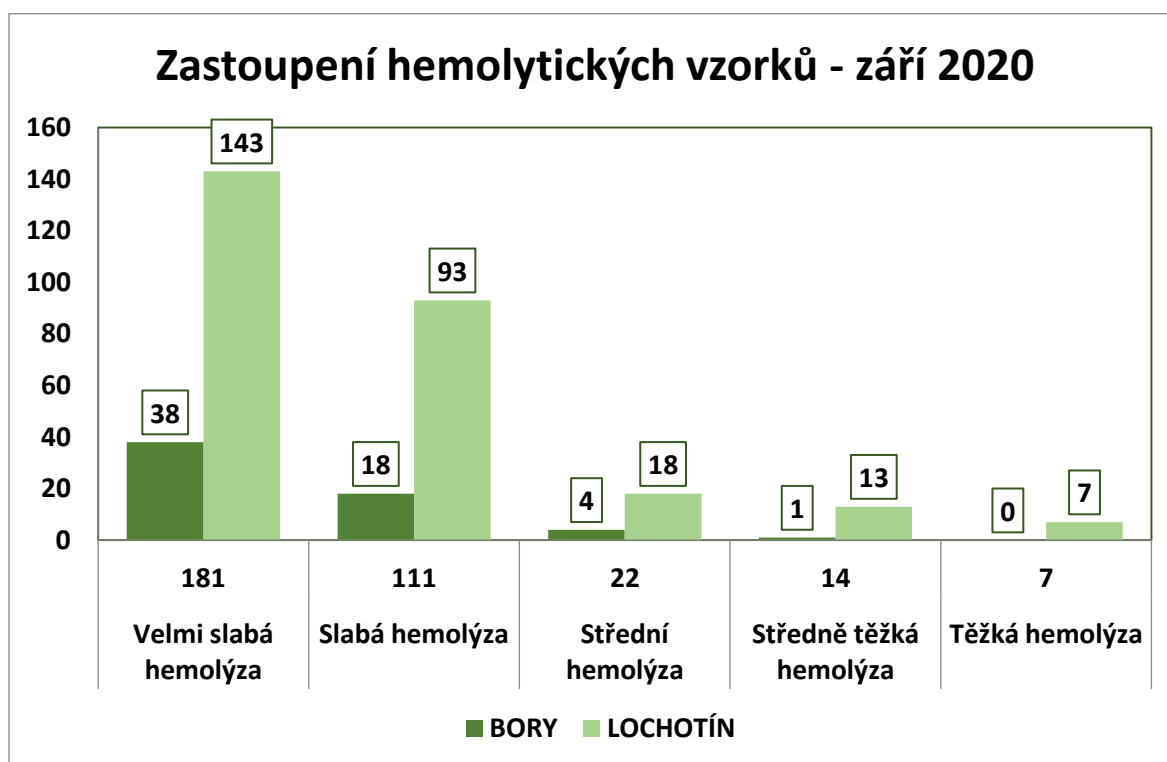
Z tabulky č. 5 lze vyčíst procentuální zastoupení a následné rozdělení chybného transportu za měsíc září. Celkové rozdělení se týká dvou částí nemocnic v Plzni – borská část a lochotínská část. Část Bory vykazuje větší chybnou četnost nesprávného limitu pro transport materiálu do laboratoře. Z celkových 420 přijatých vzorků, které byly přijaty nad maximální časový limit, přijala borská část 288 (68,57%) vzorků.

Tabulka č. 5 dále ukazuje absolutní i relativní počet četností vzorků, které byly přijaty v jednotlivých částech Fakultní nemocnice v Plzni. Graf 4 graficky znázorňuje celkový příjem vzorků za měsíc září (1. 9. 2020 – 30. 9. 2020).

### 7.2.2 Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc září 2020

V měsíci září (období od 1. 9. 2020 – 30. 9. 2020) bylo do laboratoře přijato celkem 14 309 vzorků, z toho 335 vzorků vykazovalo známky hemolýzy.

Graf 5 Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc září 2020



Zdroj: vlastní

Tabulka 6 Četnost dat pro hemolytické vzorky – září 2020

		<b>Celkový počet</b>	<b>BORY</b>	<b>%</b>	<b>LOCHOTÍN</b>	<b>%</b>
1	<b>Velmi slabá hemolýza</b>	181	38	20,99	143	79,01
2	<b>Slabá hemolýza</b>	111	18	16,22	93	83,78
3	<b>Střední hemolýza</b>	22	4	18,18	18	81,82
4	<b>Středně těžká hemolýza</b>	14	1	7,14	13	92,86
5	<b>Těžká hemolýza</b>	7	0	0,00	7	100,00

Zdroj: vlastní

V měsíci září bylo do laboratoře přijato celkem 335 hemolytických vzorků. Část Bory přijala celkem 18,21% hemolytických vzorků, naopak část Lochotín přijala celkem 66,87% hemolytických vzorků. Tabulka č. 6 zobrazuje jednotlivé stupně hemolýzy a její % zastoupení v rámci Fakultní nemocnice v Plzni.



### 7.2.3 Data za období říjen

V měsíci říjen (období od 1. 10. 2020 – 31. 10. 2020) bylo do laboratoře přijato celkem 12 542 vzorků. Časový limit pro transport byl překročen u 4,14% přijatých vzorků. Následující tabulka vykazuje četnost dat pro jednotlivé části Fakultní nemocnice v Plzni.

Tabulka 7 Četnost dat pro měsíc – říjen 2020

	Četnost vzorků celkem		Četnost vzorků správně		Četnost vzorků špatně	
	Absolutní	Relativní	Absolutní	Relativní	Absolutní	Relativní
Bory	4 969	39,62%	4 571	38,02%	398	76,69%
Lochotín	7 573	60,38%	7 452	61,98%	121	23,31%
Celkem	12 542	100%	12 023	100%	519	100%

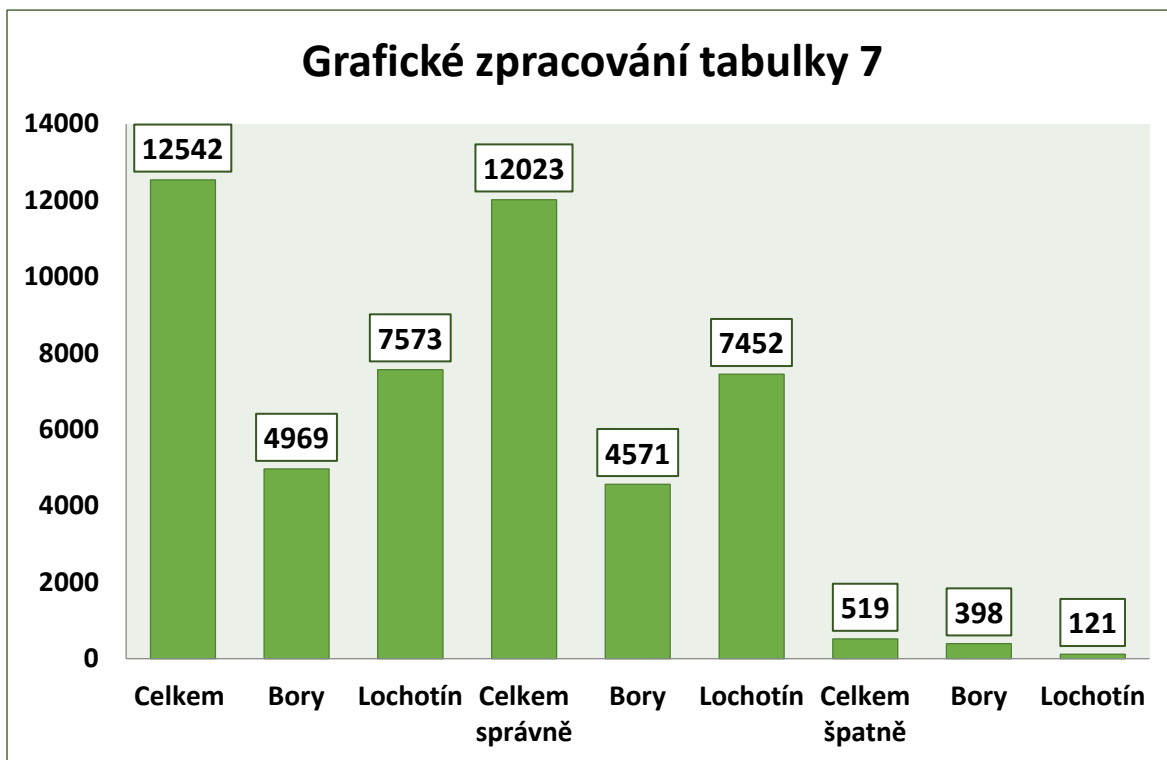
Zdroj: vlastní

Z tabulky č. 7 lze vyčíst procentuální zastoupení a následné rozdělení chybného transportu za měsíc říjen. Celkové rozdělení se týká dvou částí nemocnic v Plzni – borská část a lochotínská část. Část Bory vykazuje větší chybnou četnost nesprávného limitu pro transport. Z celkových 519 přijatých vzorků, které byly přijaty nad maximální časový limit, přijala nemocnice Bory 398 (76,69%) vzorků.

Tabulka č. 7 dále ukazuje absolutní i relativní počet četností vzorků, které byly přijaty v jednotlivých částech Fakultní nemocnici v Plzni.

Graf 6 graficky znázorňuje celkový příjem vzorků za měsíc říjen (1. 10. 2020 – 31. 10. 2020).

Graf 6 Zpracování dat za měsíc – říjen 2020

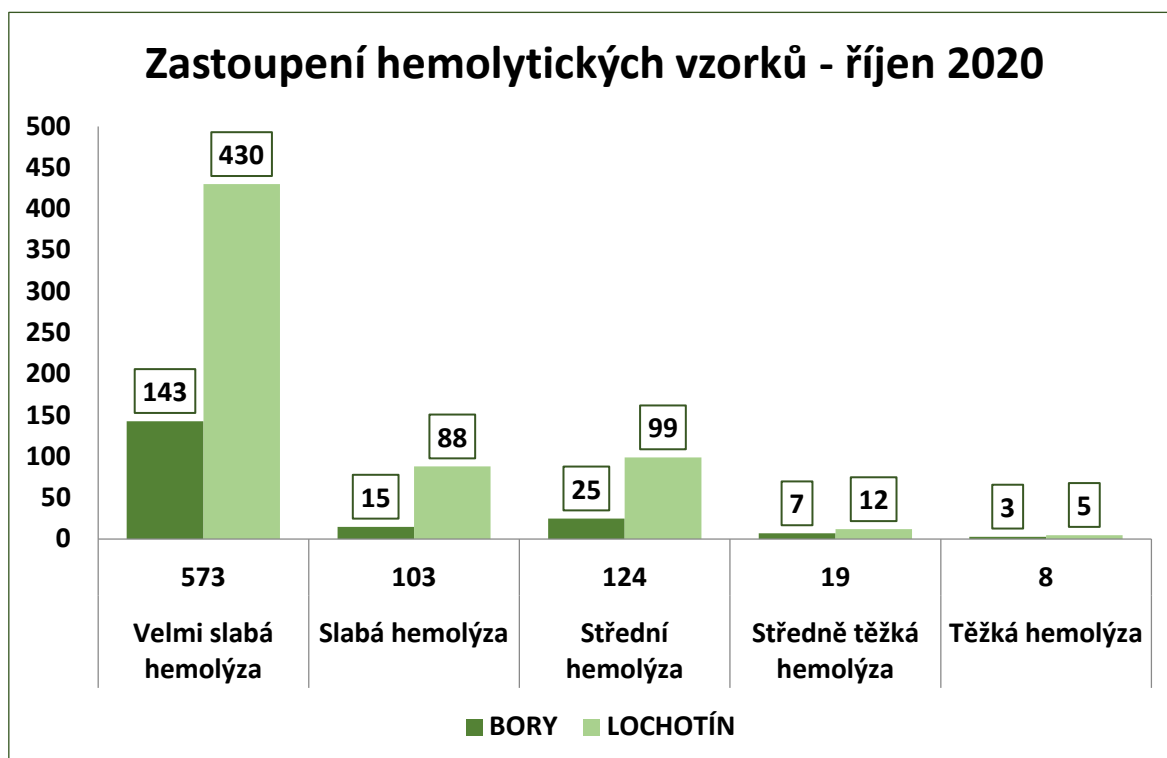


Zdroj: vlastní

## 7.2.4 Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc říjen 2020

V měsíci říjen (období od 1. 10. 2020 – 31. 10. 2020) bylo do laboratoře přijato celkem 12 542 vzorků, z toho 827 vzorků vykazovalo známky hemolýzy.

Graf 7 Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc - říjen 2020



Zdroj: vlastní

Tabulka 8 Četnost dat pro hemolytické vzorky – říjen 2020

		Celkový počet	BORY	%	LOCHOTÍN	%
1	Velmi slabá hemolýza	573	143	24,96	430	75,04
2	Slabá hemolýza	103	15	15,56	88	84,44
3	Střední hemolýza	124	25	20,16	99	79,84
4	Středně těžká hemolýza	19	7	36,84	12	63,16
5	Těžká hemolýza	8	3	37,50	5	62,50

Zdroj: vlastní

V měsíci říjen bylo do laboratoře přijato celkem 827 hemolytických vzorků. Část Bory přijala celkem 23,34% hemolytických vzorků, naopak část Lochotín přijala celkem 76,66% hemolytických vzorků. Tabulka č. 8 zobrazuje jednotlivé stupně hemolýzy a její % zastoupení v rámci Fakultní nemocnice v Plzni.

### 7.2.5 Data za období listopad

V měsíci listopad (období od 1. 11. 2020 – 30. 11. 2020) bylo do laboratoře přijato celkem 11 498 vzorků. Časový limit pro transport byl překročen u 3,17% přijatých vzorků. Následující tabulka vykazuje četnost dat pro jednotlivé části Fakultní nemocnice v Plzni.

Tabulka 9 Četnost dat pro měsíc – listopad 2020

	Četnost vzorků celkem		Četnost vzorků správně		Četnost vzorků špatně	
	Absolutní	Relativní	Absolutní	Relativní	Absolutní	Relativní
Bory	4 037	35,11%	3 862	34,69%	175	47,95%
Lochotín	7 461	64,89%	7 271	65,31%	190	52,05%
Celkem	11 498	100%	11 133	100%	365	100%

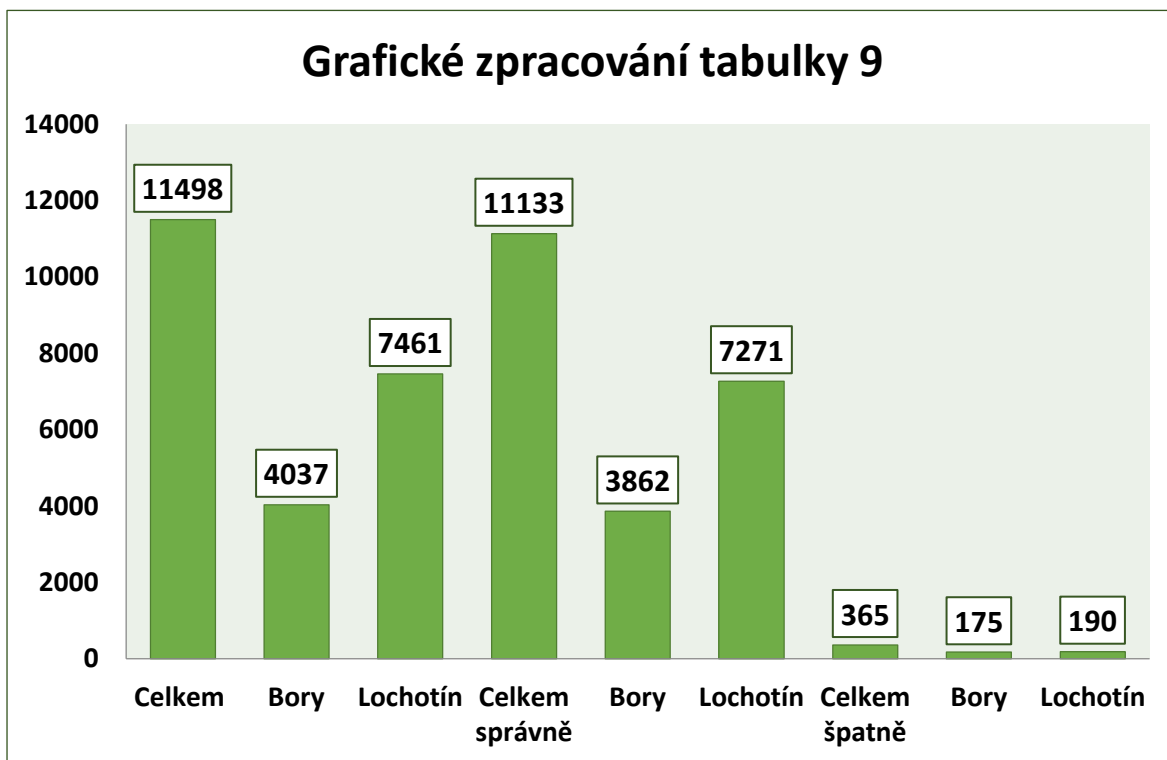
Zdroj: vlastní

Z tabulky č. 9 lze vyčíst procentuální zastoupení a následné rozdělení chybného transportu za měsíc listopad. Celkové rozdělení se týká dvou částí nemocnic v Plzni – borská část a lochotínská část. Část Lochotín vykazuje větší chybnou četnost nesprávného limitu pro transport. Z celkových 365 přijatých vzorků, které byly přijaty nad maximální časový limit, přijala nemocnice Lochotín 190 (52,05%) vzorků.

Tabulka č. 9 dále ukazuje absolutní i relativní počet četností vzorků, které byly přijaty v jednotlivých částech Fakultní nemocnici v Plzni.

Graf 8 graficky znázorňuje celkový příjem vzorků za měsíc listopad (1. 11. 2020 – 30. 11. 2020).

Graf 8 Zpracování dat za měsíc – listopad 2020

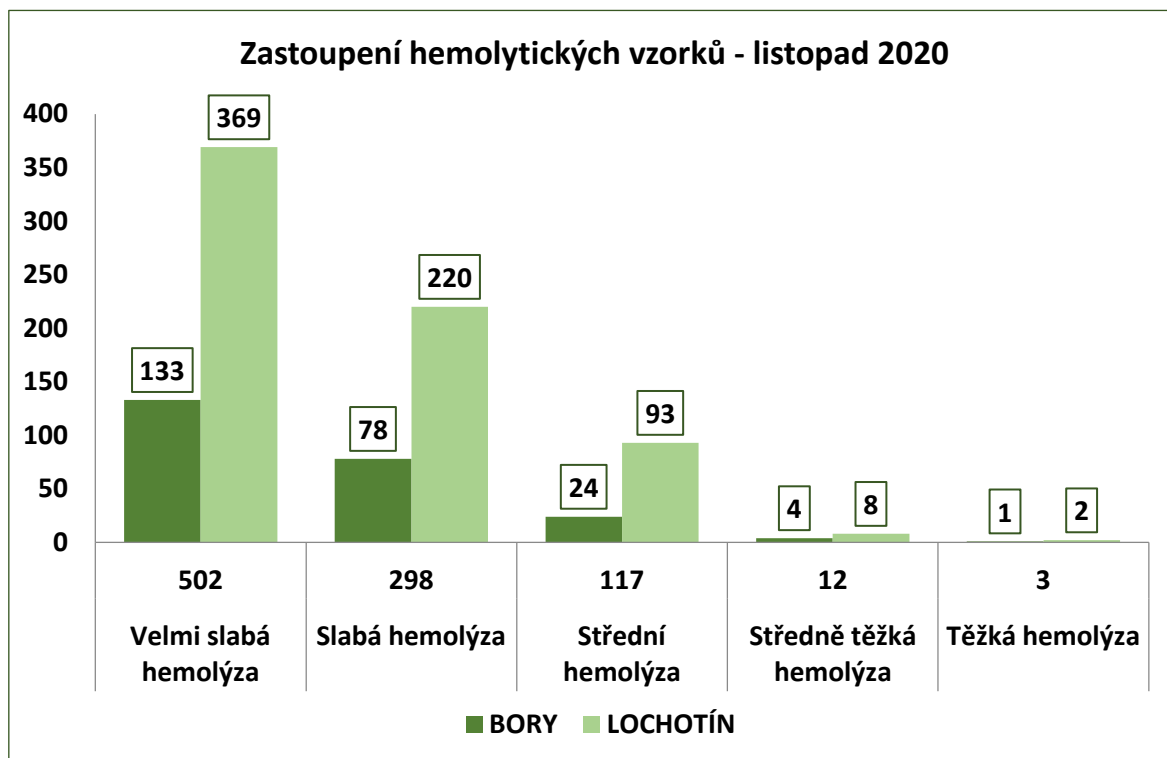


Zdroj: vlastní

### 7.2.6 Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc listopad 2020

V měsíci listopad (období od 1. 11. 2020 – 30. 11. 2020) bylo do laboratoře přijato celkem 11 498 vzorků, z toho 932 vzorků vykazovalo známky hemolýzy.

Graf 9 Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc - listopad 2020



Zdroj: vlastní

Tabulka 10 Četnost dat pro hemolytické vzorky – listopad 2020

		Celkový počet	BORY	%	LOCHOTÍN	%
1	Velmi slabá hemolýza	502	133	26,49	369	73,51
2	Slabá hemolýza	298	78	26,17	220	73,83
3	Střední hemolýza	117	24	20,51	93	79,49
4	Středně těžká hemolýza	12	4	33,33	8	66,67
5	Těžká hemolýza	3	1	33,33	2	66,67

Zdroj: vlastní

V měsíci listopad bylo do laboratoře přijato celkem 932 hemolytických vzorků. Část Bory přijala celkem 25,75% hemolytických vzorků, naopak část Lochotín přijala celkem 74,25% hemolytických vzorků. Tabulka č. 10 zobrazuje jednotlivé stupně hemolýzy a její % zastoupení v rámci Fakultní nemocnice v Plzni.

### 7.2.7 Data za období prosinec

V měsíci prosinec (období od 1. 12. 2020 – 31. 12. 2020) bylo do laboratoře přijato celkem 11 343 vzorků. Časový limit pro transport byl překročen u 2,90% přijatých vzorků. Následující tabulka vykazuje četnost dat pro jednotlivé nemocnice v Plzni.

Tabulka 11 Četnost dat pro měsíc – prosinec 2020

	Četnost vzorků celkem		Četnost vzorků správně		Četnost vzorků špatně	
	Absolutní	Relativní	Absolutní	Relativní	Absolutní	Relativní
Bory	3994	35,21%	3809	34,58%	185	56,23%
Lochotín	7349	64,79%	7205	65,42%	144	43,77%
<b>Celkem</b>	<b>11343</b>	<b>100%</b>	<b>11014</b>	<b>100%</b>	<b>329</b>	<b>100%</b>

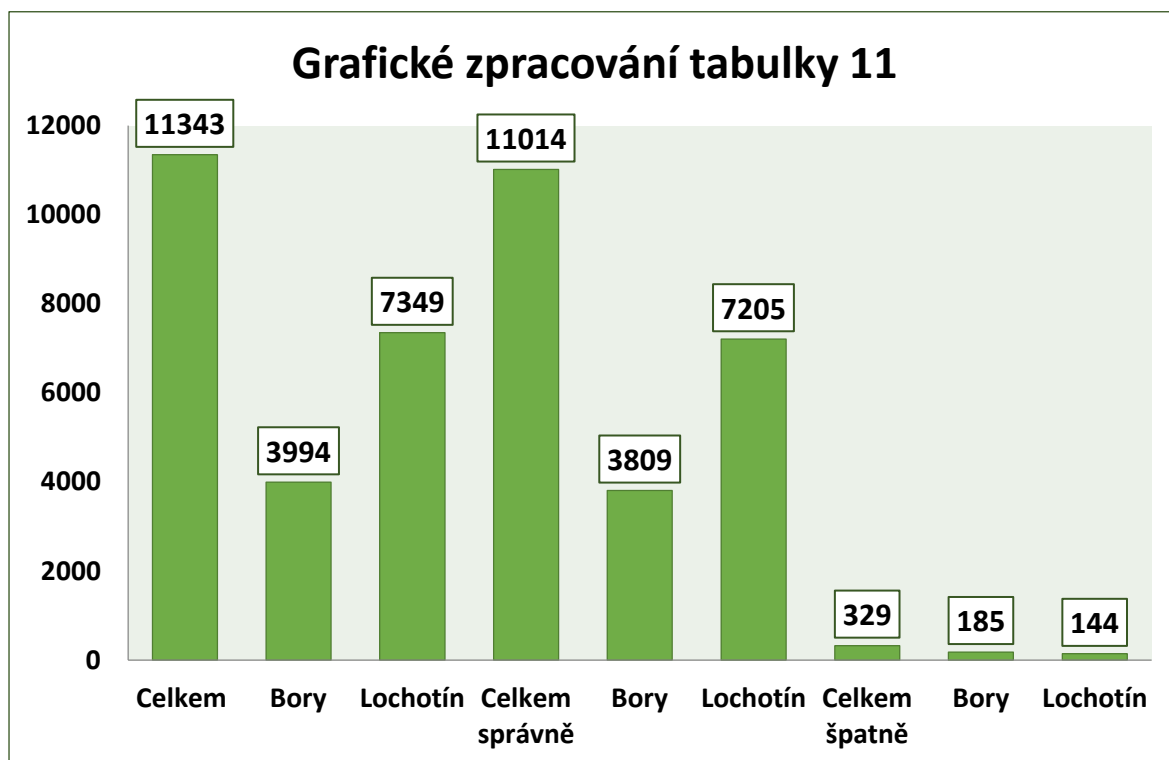
Zdroj: vlastní

Z tabulky č. 11 lze vyčíst procentuální zastoupení a následné rozdělení chybného transportu za měsíc prosinec. Celkové rozdělení se týká dvou částí nemocnic v Plzni – borská část a lochotínská část. Část Bory vykazuje větší chybnou četnost nesprávného limitu pro transport. Z celkových 329 přijatých vzorků, které byly přijaty nad maximální časový limit, přijala nemocnice Bory 185 (56,23%) vzorků.

Tabulka č. 11 dále ukazuje absolutní i relativní počet četností vzorků, které byly přijaty v jednotlivých nemocnicích.

Graf 10 graficky znázorňuje celkový příjem vzorků za měsíc prosinec (1. 12. 2020 – 31. 12. 2020).

Graf 10 Zpracování dat za měsíc – prosinec 2020



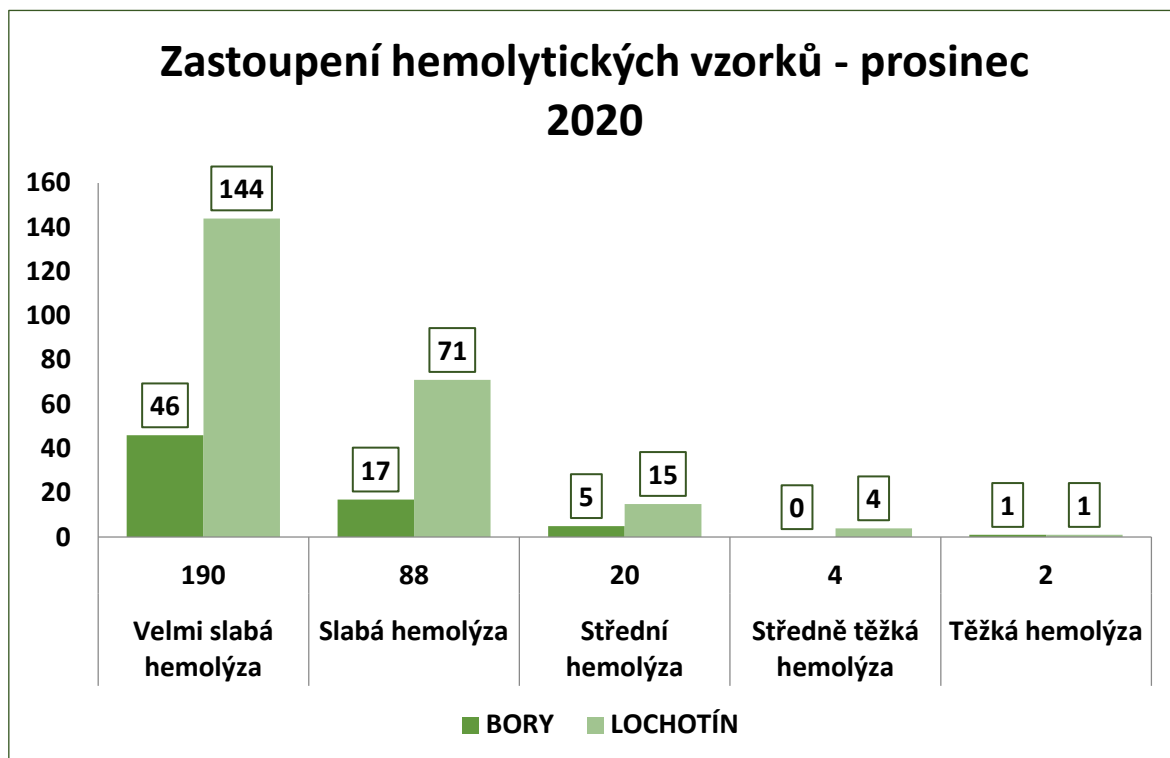
Zdroj: vlastní



### 7.2.8 Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc prosinec 2020

V měsíci prosinec (období od 1. 12. 2020 – 31. 12. 2020) bylo do laboratoře přijato celkem 11 343 vzorků., z toho 304 vzorků vykazovalo známky hemolýzy.

Graf 11 Zastoupení hemolytických vzorků za měsíc - prosinec 2020



Zdroj: vlastní

Tabulka 12 Četnost dat pro hemolytické vzorky – prosinec 2020

		Celkový počet	BORY	%	LOCHOTÍN	%
1	Velmi slabá hemolýza	190	46	24,21	144	75,79
2	Slabá hemolýza	88	17	19,32	71	80,68
3	Střední hemolýza	20	5	25,00	15	75,00
4	Středně těžká hemolýza	4	0	0,00	4	100,00
5	Těžká hemolýza	2	1	50,00	1	50,00

Zdroj: vlastní

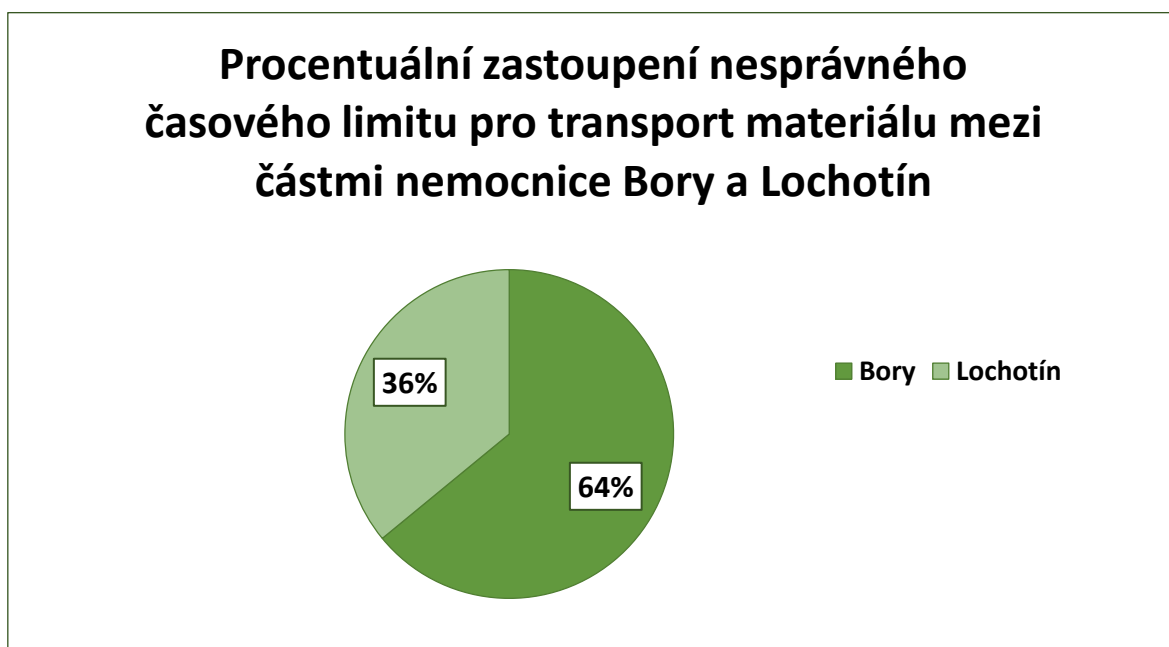
V měsíci prosinec bylo do laboratoře přijato celkem 304 hemolytických vzorků. Část Bory přijala celkem 22,70% hemolytických vzorků, naopak část Lochotín přijala celkem 77,30% hemolytických vzorků. Tabulka č. 12 zobrazuje jednotlivé stupně hemolýzy a její % zastoupení v rámci Fakultní nemocnice v Plzni.

## 7.3 Shrnutí a porovnání získaných dat

### 7.3.1 Procentuální porovnání překročeného limitu pro transport a četnost hemolýzy mezi částmi Bory a Lochotín

Za jednotlivá období od září 2020 – prosinec 2020 bylo celkem 1633 vzorků, které nesplnily podmínky správného transportu. Část Fakultní nemocnice Bory neobstála celkem 1046x a část Fakultní nemocnice Lochotín celkem 587x.

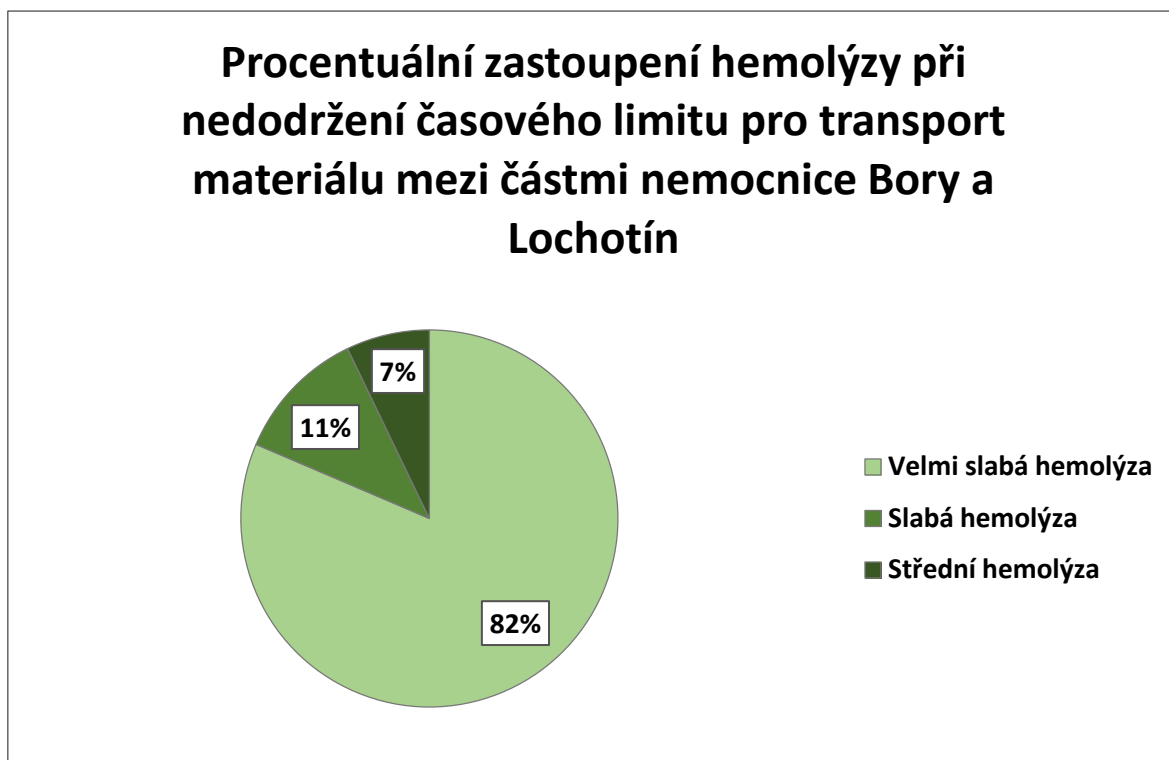
*Graf 12 Procentuální zastoupení nesprávného časového limitu pro transport materiálu mezi částmi nemocnice Bory a Lochotín – září 2020 až prosinec 2020*



*Zdroj: vlastní*

Graf 12 ukazuje na procentuální chybu nesprávného časového limitu pro transport materiálu za období září 2020 – prosinec 2020 mezi dvěma částmi Fakultní nemocnice v Plzni. Borská část Fakultní nemocnice nesplnila podmínky pro transport, který nesměl přesáhnout časový úsek trvající déle než 2 hodiny. Je tedy zřejmé, že v této části Fakultní nemocnice Bory může častěji docházet k ovlivnění měřených výsledků na základě preanalytické chyby. Nejčastěji dochází k ovlivnění glukózy, draslíku nebo fosforu.

Graf 13 Procentuální zastoupení hemolýzy při nedodržení časového limitu pro transport materiálu mezi částmi nemocnice Bory a Lochotín – září 2020 až prosinec 2020



Zdroj: vlastní

Na grafu 13 lze vidět procentuální zastoupení jednotlivých stupňů hemolýzy při překročení časového limitu pro transport materiálu. Od září 2020 do prosince 2020 bylo přijato celkem 70 vzorků, které vykazovaly známky hemolýzy a jejich transport trval déle jak 2 hodiny. Nejvíce bylo vzorků s velmi slabou hemolýzou (57), dále slabou hemolýzou (8) a střední hemolýzou (5). Naopak za toto čtvrtletí nebyly přijaty žádné vzorky, se středně těžkou nebo těžkou hemolýzou, které zároveň nesplnily podmínky pro transport.

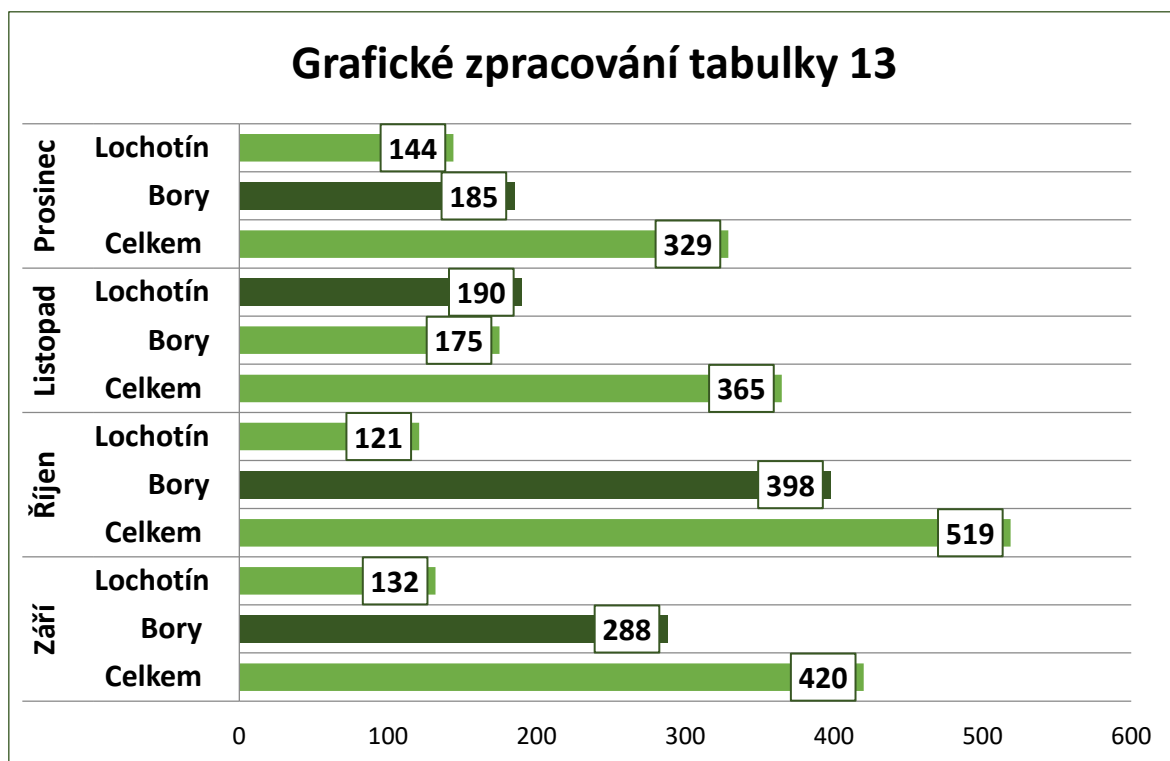
Následující tabulka č. 13 shrnuje veškerá získaná data za jedno čtvrtletí.

Tabulka 13 Souhrn dat za měsíce září 2020 – prosinec 2020

Září	Celkem	420	100,00%
	Bory	288	68,57%
	Lochotín	132	31,43%
Říjen	Celkem	519	100,00%
	Bory	398	76,69%
	Lochotín	121	23,31%
Listopad	Celkem	365	100,00%
	Bory	175	47,95%
	Lochotín	190	52,05%
Prosinec	Celkem	329	100,00%
	Bory	185	56,23%
	Lochotín	144	43,77%

Zdroj: vlastní

Graf 14 Grafické zpracování tabulky 13



Zdroj: vlastní

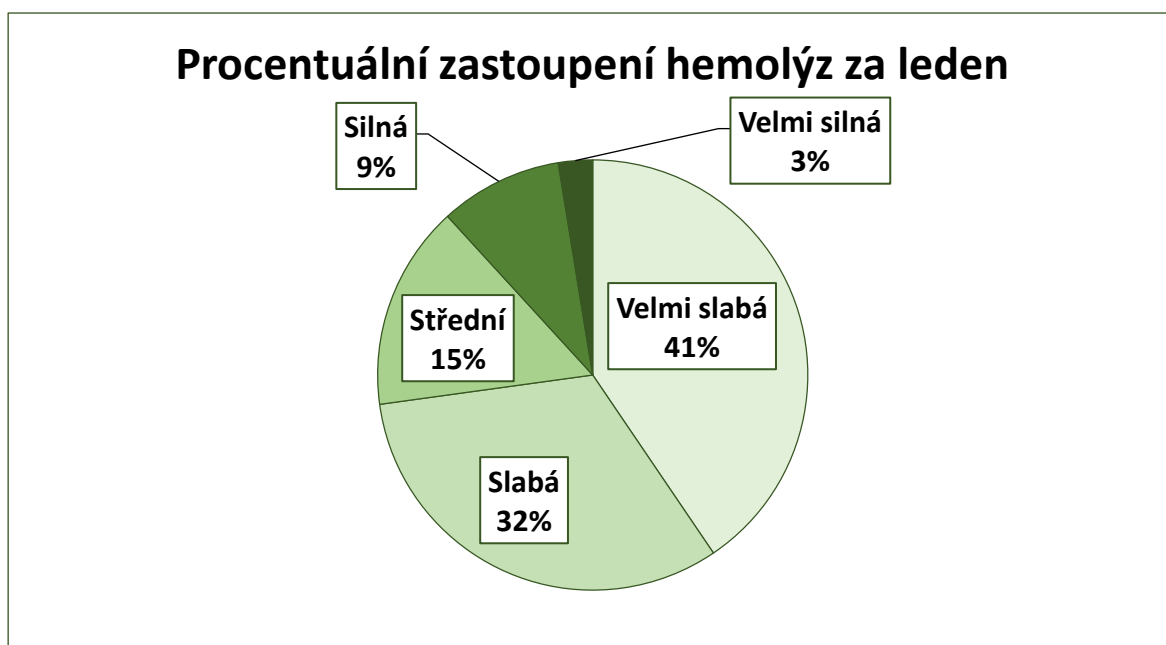
Tabulka č. 13 shrnuje veškerá data nasbíraná za celé čtvrtletí. V jednotlivých měsících lze pozorovat % chybu transport vzorků do laboratoře. Borská část Fakultní nemocnice v Plzni neobstála celkem ve třech měsících. Lochotínská část Fakultní

nemocnice v Plzni pouze jednou a to v měsíci listopad. Je tedy zřejmé, že potrubní pošta, která je zavedena v lochotínské části Fakultní nemocnice, je více spolehlivým faktorem pro transport materiálu do laboratoře.

#### 7.4 Procentuální zastoupení hemolýz ve Fakultní nemocnici v Plzni

Za měsíc leden bylo do laboratoře přijato celkem 12 376 vzorků, z toho 195 vzorků (1,58%) vykazovalo hemolýzu. Stupeň síly hemolýzy určuje změřený hemolytický index, díky kterému bylo možné hemolytické vzorky rozdělit do jednotlivých skupin.

Graf 15 Procentuální zastoupení hemolytických sér v měsíci leden



Zdroj: vlastní

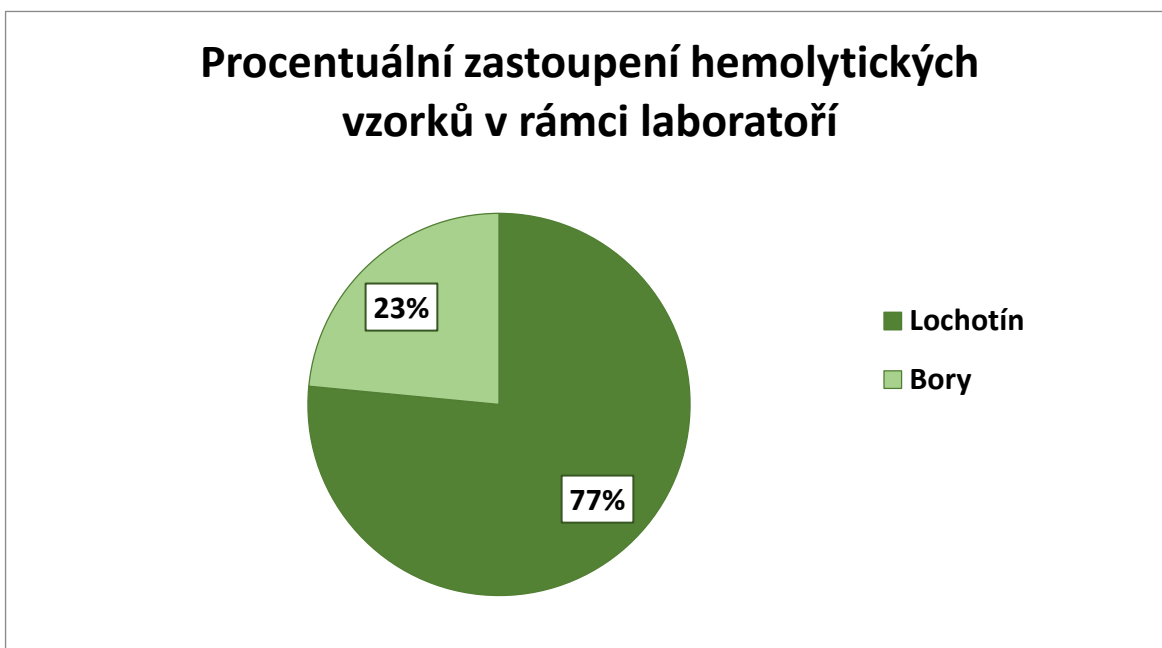
Hemolytické vzorky jsou považovány za hemolytické při určitých hodnotách hemoglobinu.

Tabulka 14 Četnost dat pro graf 15

		Hemoglobin [g/l]	Počet vzorků
1	Velmi slabá hemolýza	50 - 99	79
2	Slabá hemolýza	100 - 199	63
3	Střední hemolýza	199 - 299	30
4	Středně těžká hemolýza	299 - 399	18
5	Těžká hemolýza	400 <	5

Zdroj: vlastní

Graf 16 Procentuální zastoupení hemolytických vzorků v rámci laboratoří



Zdroj: vlastní

Graf 16 poukazuje na možné negativní důsledky potrubní pošty, která je zavedena v lochotínské části Fakultní nemocnice v Plzni. Lochotínská část může být dále negativně ovlivněna kvůli příjmu pacientů s kritickými hodnotami. Laboratoř v lochotínské části přijala za jedno čtvrtletí (září 2020 – prosinec 2020) až 1835 vzorků, které vykazovaly známky hemolýzy. Naopak borská laboratoř přijala pouze 563 vzorků, které byly hemolytické.

## 8 KVANTITATIVNÍ VÝZKUM

Do této části výzkumu jsou zahrnuta anonymizovaná data z nemocničního systému Open-LIMS. Soubor dat k vyhodnocení kvantitativního výzkumu se týká pouze jednoho měsíce a to konkrétně 1. 1. 2021. Data obsahují informace o počtu hemolytických sér a jejich následné možné ovlivnění změřených výsledků. Podle hemolytického indexu se data dala rozřadit do jednotlivých skupin vzniklé hemolýzy. V další části tohoto výzkumu se věnuji změřeným výsledkům u tří mnou zvolených metod. Jedná se o metody měřící hladinu aspartátaminotransferázy (AST), laktátdehydrogenázy (LD) a koncentraci draselných iontů ( $K^+$ ) v séru. Zpracovaná a vyhodnocená data jsou formou krabicového grafu (boxplotu), který po jeho vyhodnocení odhalí statistickou významnost pomocí Wilcoxonova testu. Statistickou významnost odhaluje vypočítaná hodnota  $p$ , která je pro tento výzkum brána jako statistická významnost rozdílů mediánu vzorků bez hemolýzy a s hemolýzou. Za statisticky významné se považuje vypočítaná hodnota  $p$ , která musí být rovna či nižší než 0,05. Za silně statisticky významné se považují hodnoty  $p$ , které jsou nižší nebo rovno 0,01.

## 8.1 Hemolytické sérum a jeho vliv na konkrétní metody

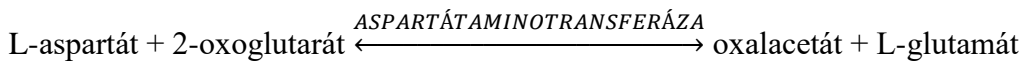
Pro kvanlitativní výzkum jsem zvolila celkem tři konkrétní metody, u kterých se budu snažit zachytit nějaké procentuální ovlivnění, které způsobuje hemolýza séra. U všech zvolených metod je prokázáno jisté ovlivnění i slabého hemolytického séra. Mým cílem je zjistit, rozdíl mediánů mezi jednotlivými boxploty, které jsou zástupci jednotlivých stupňů hemolýzy a následně vyhodnotit pomocí Wilcoxonova testu, zdali je toto měření statisticky významným aspektem. Statistickou významnost odhaluje vypočítaná hodnota  $p$ , která je pro tento výzkum brána jako statistická významnost rozdílů mediánu vzorků bez hemolýzy a s hemolýzou. Za statisticky významné se považuje vypočítaná hodnota  $p$ , která musí být rovna či nižší než 0,05. Za silně statisticky významné se považují hodnoty  $p$ , které jsou nižší nebo rovno 0,01.



### 8.1.1 Hemolytické sérum a jeho vliv na měření aktivity aspartátaminotransferázy

Aspartátaminotranferáza (AST) je enzym, který se vyskytuje v játrech, kosterním svalstvu a je i součástí erytrocytů. Proto pro stanovení aktivity tohoto enzymu je nevhodné použít hemolytické vzorky. Referenční hodnoty v séru: do 0,67 $\mu$ kat/l.

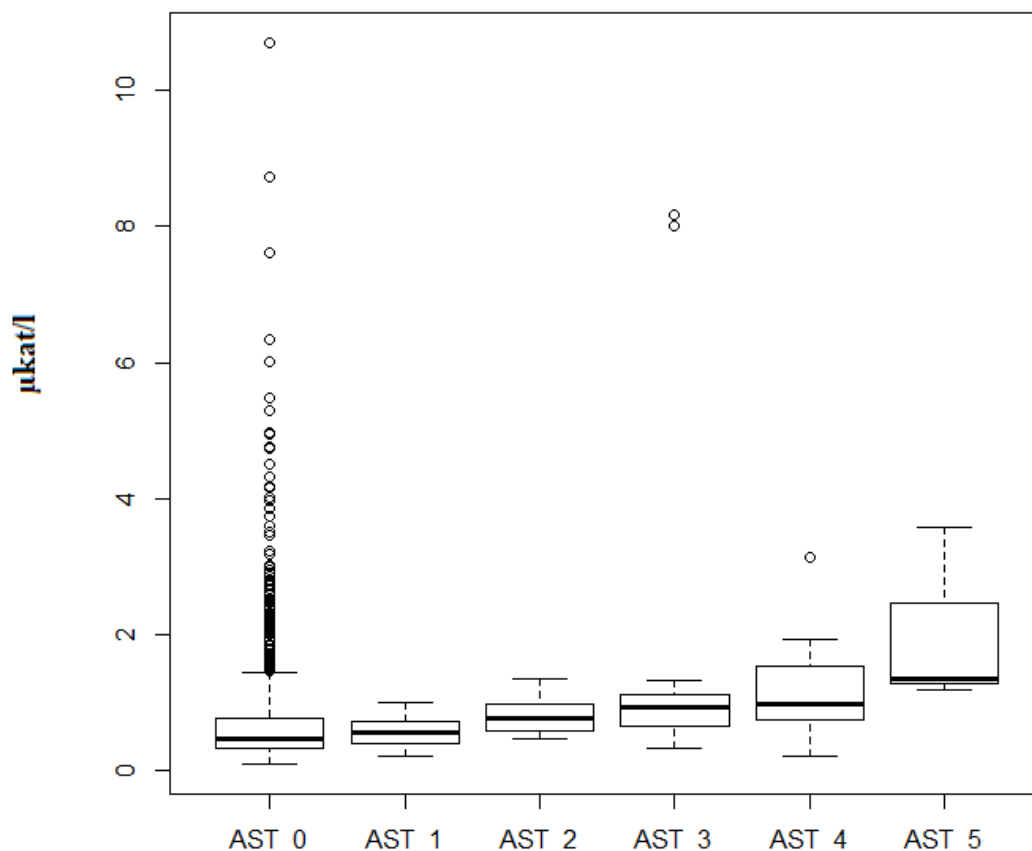
Princip metody:



- Rychlost oxidace NADH je přímo úměrná katalytické aktivitě AST. Stanovuje se měřením poklesu absorbance. (DRECHSLEROVÁ, 2005)

Při stanovení jsme našli statisticky významné rozdíly mezi vzorky bez a s hemolýzou, které jsou vyobrazeny v následujícím krabicovém grafu 17.

Graf 17 Boxploty pro hodnoty AST



Zdroj: vlastní

Graf 17 vyobrazuje jednotlivé boxploty, které se liší hodnotami mediánů pro daný stupeň hemolýzy. Hodnoty mediánů spolu s hodnotami p jsou uvedeny v následující

tabulce. Za statisticky významné se považuje hodnota  $p \leq 0,05$ . Za silně statisticky významné se považují hodnoty  $p \leq 0,01$

Tabulka 15 Hodnoty z grafu 17

Stupeň hemolýzy	Boxplot	Medián	Rozdíl mediánů	Hodnoty p	Statistická významnost
0 bez hemolýzy	AST_O	0,470			
1 velmi slabá	AST_I	0,610	-0,140	0,414600	nevýznamné
2 slabá	AST_II	0,855	-0,385	0,000090	velmi významné
3 střední	AST_III	0,945	-0,475	0,001484	velmi významné
4 silná	AST_IV	1,120	-0,650	0,018070	významné
5 velmi silná	AST_V	2,100	-1,630	0,012300	významné

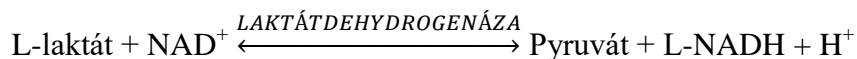
Zdroj: vlastní

- U velmi slabé hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 0,610  $\mu\text{kat/l}$ , rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 0,140  $\mu\text{kat/l}$ . Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,414600 a je statisticky považován za nevýznamný. Rozdíl mediánů odpovídá 22,95%.  $(p \leq 0,05)$
- U slabé hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 0,855  $\mu\text{kat/l}$ , rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 0,358  $\mu\text{kat/l}$ . Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,000090 a je statisticky považován za velmi významný. Rozdíl mediánů odpovídá 41,87%.  $(p \leq 0,01)$
- U střední hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 0,945  $\mu\text{kat/l}$ , rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 0,475  $\mu\text{kat/l}$ . Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,001484 a je statisticky považován za velmi významný. Rozdíl mediánů odpovídá 50,26%.  $(p \leq 0,01)$
- U silné hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 1,120  $\mu\text{kat/l}$ , rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 0,650  $\mu\text{kat/l}$ . Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,018070 a je statisticky považován za významný. Rozdíl mediánů odpovídá 58,04%.  $(p \leq 0,05)$
- U velmi silné hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 2,100  $\mu\text{kat/l}$ , rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 1,630  $\mu\text{kat/l}$ . Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,012300 a je statisticky považován za významný. Rozdíl mediánů odpovídá 77,62%.  $(p \leq 0,05)$

### 8.1.2 Hemolytické sérum a jeho vliv na měření aktivity laktátdehydrogenázy

Laktátdehydrogenáza (LD) je enzym, který se vyskytuje v srdečních a kosterních svalech. Dále je přítomný v játrech, ledvinách a erytrocytech. Erytrocyty obsahují asi 100x až 360x více LD, než je přítomno v plazmě. Z tohoto důvodu nelze pro stanovení aktivity LD použít hemolytické sérum. Referenční hodnoty v séru: 6 - 8  $\mu\text{kat/l}$ .

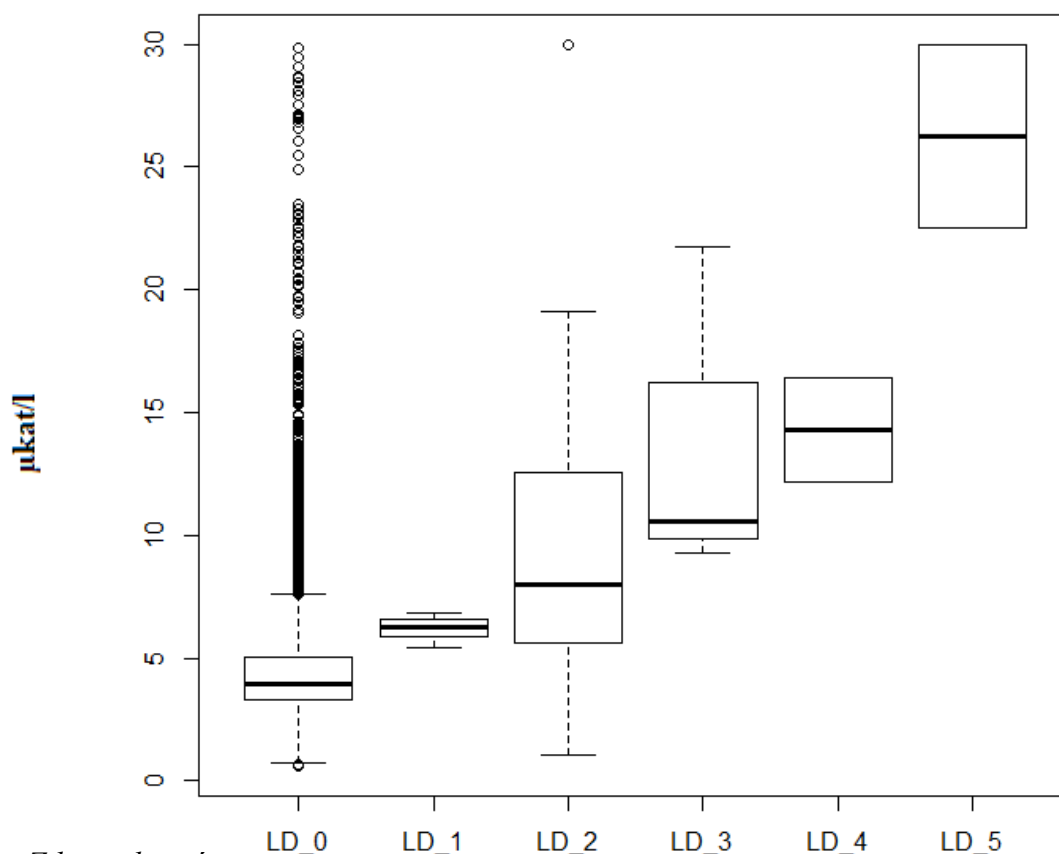
#### Princip metody:



- Počáteční rychlost vytváření NADH je přímo úměrná katalytické aktivitě laktátdehydrogenázy. Stanovuje se fotometricky měřením nárůstu absorbance.

(DRECHSLEROVÁ, 2005)

Graf 18 Boxploty pro hodnoty LD



Zdroj: vlastní

Graf 18 vyobrazuje jednotlivé boxploty, které se liší hodnotami mediánů pro daný stupeň hemolýzy. Hodnoty mediánů spolu s hodnotami p jsou uvedeny v následující tabulce. Za statisticky významné se považuje hodnota  $p \leq 0,05$ . Za silně statisticky významné se považují hodnoty  $p \leq 0,01$

Tabulka 16 Hodnoty pro graf 18

Stupeň hemolýzy	Boxplot	Medián	Rozdíl mediánů	Hodnoty p	Statistická významnost
0 bez hemolýzy	LD_O	3,920			
1 velmi slabá	LD_I	6,230	-2,310	0,000626	<b>velmi významné</b>
2 slabá	LD_II	8,005	-4,085	0,000039	<b>velmi významné</b>
3 střední	LD_III	10,585	-6,665	0,001413	<b>velmi významné</b>
4 silná	LD_IV	14,300	-10,380	0,019420	<b>velmi významné</b>
5 velmi silná	LD_V	26,270	-22,350	0,014870	<b>velmi významné</b>

Zdroj: vlastní

- U velmi slabé hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 6,23  $\mu\text{kat/l}$ , rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 2,31  $\mu\text{kat/l}$ . Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,000626 a je statisticky považován za velmi významný. Rozdíl mediánů odpovídá 37,08%. ( $p \leq 0,01$ )
- U slabé hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 8,01  $\mu\text{kat/l}$ , rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 4,09  $\mu\text{kat/l}$ . Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,000039 a je statisticky považován za velmi významný. Rozdíl mediánů odpovídá 51,06%. ( $p \leq 0,01$ )
- U střední hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 10,59  $\mu\text{kat/l}$ , rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 6,67  $\mu\text{kat/l}$ . Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,001413 a je statisticky považován za velmi významný. Rozdíl mediánů odpovídá 62,98%. ( $p \leq 0,01$ )
- U silné hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 14,30  $\mu\text{kat/l}$ , rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 10,38  $\mu\text{kat/l}$ . Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,019420 a je statisticky považován za velmi významný. Rozdíl mediánů odpovídá 72,59%. ( $p \leq 0,01$ )
- U velmi silné hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 26,27  $\mu\text{kat/l}$ , rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 22,35  $\mu\text{kat/l}$ . Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,014870 a je statisticky považován za velmi významný. Rozdíl mediánů odpovídá 85,08%. ( $p \leq 0,01$ )

### 8.1.3 Hemolytické sérum a jeho vliv na měření koncentrace draselných iontů

Draslík ( $K^+$ ) je intracelulární kationt, který se vyskytuje v intracelulární tekutině (ICT). Draslík se uvolňuje z poškozených buněk, proto vzorky nesmí vykazovat známky hemolýzy. Referenční hodnoty v séru: 3,8 – 5,2 mmol/l.

#### Princip metody:

Iontově selektivní elektrody (ISE) využívají ojedinělou vlastnost, kde se vytváří membránový potenciál (elektromotorická síla, EMF) při stanovení iontů v roztoku. Selektivní membrána elektrod je v kontaktu se stanovovaným roztokem a roztokem vnitřní náplně. Roztok vnitřní náplně má stálou koncentraci stanovovaných iontů. Podle vlastností membrány, z obou stran EMF membrány, je určen rozdíl koncentrace stanovovaného iontu mezi měřeným roztokem a vnitřním plnicím roztokem. EMF pro specifické ionty v roztoku vzniká podle Nernstovy rovnice. (WikiSkripta, c2018)

Nernstovy rovnice:  $E = E_0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln(f \cdot C_t) / (f \cdot C_i)$

Kde:

$E$  = EMF elektrody

$E_0$  = standardní EMF

$R$  = konstanta

$T$  = teplota

$n$  = náboj iontu

$F$  = Faradayova konstanta

$\ln$  = přirozený logaritmus (e)

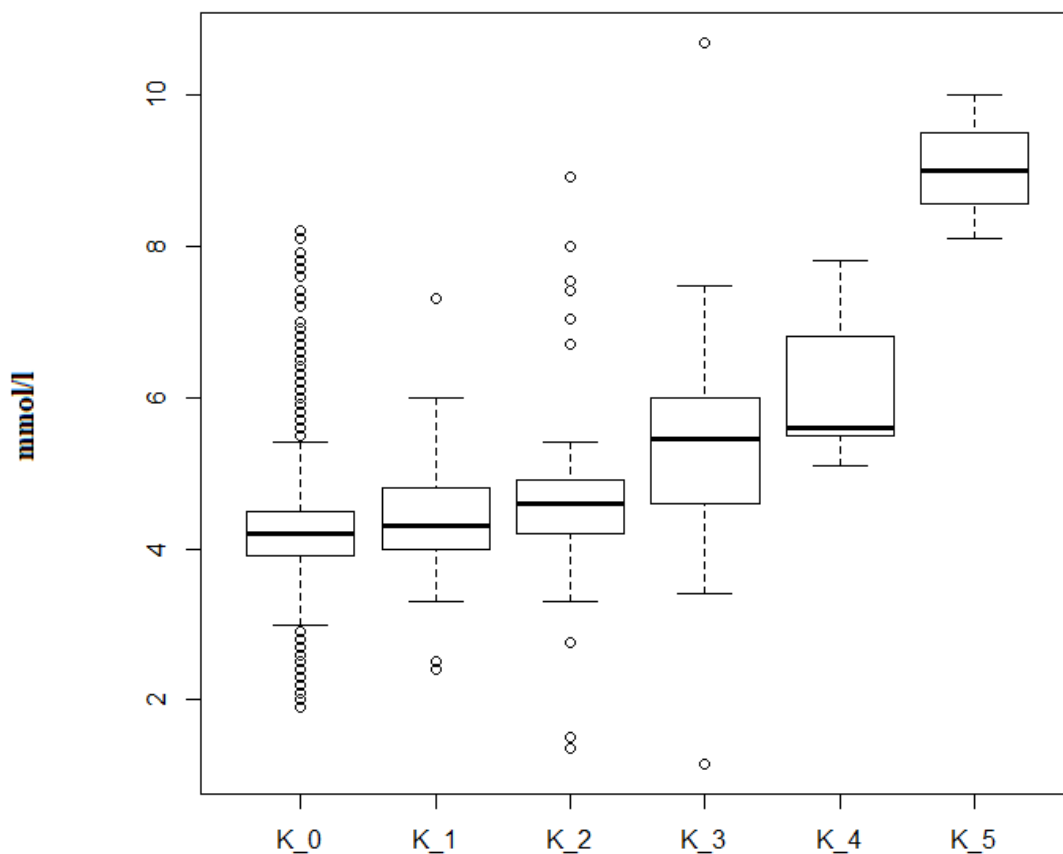
$f$  = koeficient aktivity

$C_t$  = koncentrace iontu ve vzorku

$C_i$  = koncentrace iontu ve vnitřním roztoku

Při stanovení jsme našli statisticky významné rozdíly mezi vzorky bez a s hemolýzou, které jsou vyobrazeny v následujícím krabicovém grafu 16.

Graf 19 Boxploty pro hodnoty  $K^+$



Zdroj: vlastní

Graf 19 vyobrazuje jednotlivé boxploty, které se liší hodnotami mediánů pro daný stupeň hemolýzy. Hodnoty mediánů spolu s hodnotami  $p$  jsou uvedeny v následující tabulce. Za statisticky významné se považuje hodnota  $p \leq 0,05$ . Za silně statisticky významné se považují hodnoty  $p \leq 0,01$

Tabulka 17 Hodnoty z grafu 19

Stupeň hemolýzy	Boxplot	Medián	Rozdíl mediánů	Hodnoty p	Statistická významnost
0 bez hemolýzy	K_O	5,050			
1 velmi slabá	K_I	2,400	2,650	0,0097910000	<b>velmi významné</b>
2 slabá	K_II	1,360	3,690	0,0000013440	<b>velmi významné</b>
3 střední	K_III	1,150	3,900	0,0000000015	<b>velmi významné</b>
4 silná	K_IV	5,100	-0,050	0,0000000001	<b>velmi významné</b>
5 velmi silná	K_V	8,100	-3,050	0,0005190000	<b>velmi významné</b>

Zdroj: vlastní

- U velmi slabé hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 2,40 mmol/l, rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 2,65 mmol/l. Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,0097910000 a je statisticky považován za významný. Rozdíl mediánů odpovídá 110,42%. ( $p \leq 0,01$ )
- U slabé hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 1,36 mmol/l, rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 3,69 mmol/l. Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,0000013440 a je statisticky považován za významný. Rozdíl mediánů odpovídá 268,38%. ( $p \leq 0,01$ )
- U střední hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 1,15 mmol/l, rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 3,90 mmol/l. Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,0000000015 a je statisticky považován za významný. Rozdíl mediánů odpovídá 339,13%. ( $p \leq 0,01$ )
- U silné hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 5,10 mmol/l, rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 0,05 mmol/l. Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,0000000001 a je statisticky považován za významný. Rozdíl mediánů odpovídá 0,98%. ( $p \leq 0,01$ )
- U velmi slabé hemolýzy byla zjištěna hodnota mediánu 8,10 mmol/l, rozdíl vůči vzorku bez hemolýzy byl 3,05 mmol/l. Pravděpodobnost tohoto rozdílu je 0,0005190000 a je statisticky považován za významný. Rozdíl mediánů odpovídá 37,65%. ( $p \leq 0,01$ )

## 9 DISKUZE

Celá bakalářská práce je rozdělena do dvou velkých částí (teoretická a praktická část) a dvou malých částí (preanalytická fáze a hemolýza séra).

V teoretické části jsem na začátku detailně popisovala jednu z laboratorních fází a to konkrétně preanalytickou část, která je největším zdrojem možných chyb, které později negativně ovlivňují výsledek laboratorního vyšetření. V druhé části teorie jsem krátce popsala krev jako laboratorní materiál. Dále jsem se věnovala převážně hemolytickému séru, které je nejčastějším negativním důsledkem špatné preanalytické fáze.

V praktické části jsem si zvolila 2 hlavní cíle, 4 dílčí cíle, 4 předpoklady a 3 výzkumné otázky. K ověření cílů, předpokladů a výzkumných otázek jsem si celou praktickou část rozdělila na dva výzkumy. První výzkum (kvantitativní) se zabývá preanalytikou. Konkrétně jsem zde zkoumala časovou náročnost a druh distribuce vzorků do biochemické laboratoře. Druhý výzkum (kvantitativní) se zaměřuje především na výsledky analytů u hemolytických sér a jejich možné ovlivnění. Veškerá použitá data, která jsem použila pro zpracování praktické části, jsou zcela anonymní. Soubor dat mi poskytla Fakultní nemocnice v Plzni.

Do kvalitativního výzkumu bylo zahrnuto celkem 49 692 vzorků, které za jedno čtvrtletí v roce 2020 přijala do laboratoře Fakultní nemocnice v Plzni. Data se týkala samotné doby transportu celé Fakultní nemocnice v Plzni, která je ale rozdělena na dvě části. Doba transportu počíná časem odběru materiálu a je ukončena v časový moment, kdy materiál dorazí do laboratoře. Tento časový interval nesmí přesáhnout dobu delší než 2 hodiny, jak sama nemocnice uvádí na svých stránkách. (ÚKBH FN Plzeň, 2003). Při delší časové prodlevě mohou být výsledky některých metod ovlivněny. Nejčastěji dochází k ovlivnění glukózy, draslíku nebo fosforu. Průměrná četnost chyb za čtvrtletí (září 2020 – prosinec 2020) vyšla 3,29%. Tímto zjištěním jsem vyvrátila 1. předpoklad u kvalitativního výzkumu, který měl potvrdit dodání vzorků do laboratoře v časovém intervalu kratším než 2. hodiny a zároveň splnila první dílčí cíl kvalitativního výzkumu. Tato procentuální četnost vzniklé chyby se týká celé Fakultní nemocnice, která se ve svých dvou hlavních částí (Lochotín a Bory) liší způsobem přepravy materiálu do laboratoře. Z tohoto důvodu jsem se snažila přijít na hlavní důvod, který způsobuje dlouhý čas u transportu materiálu. V tomto výzkumu (TÓTH, a další, 2014) bylo uvedeno, že systém potrubní pošty vedl



k rychlejšímu transportu vzorků do laboratoře. Proto jsem se v další kapitole zaměřila na konkrétní způsob dopravy materiálu do laboratoře. V lochotínské části se vzorky do laboratoře transportují pomocí potrubní pošty, zatímco v borské části Fakultní nemocnice přeprava závisí na rychlosti a spolehlivosti zdravotnického personálu. Cílem tohoto výzkumu bylo porovnat, který z možných transportů způsobuje menší % chybu, která se týká časového intervalu 2 hodin. Kapitoly 7.2.1 – 7.2.4 se zabývají jednotlivými měsíci (září 2020 – prosinec 2020). V každém měsíci bylo do laboratoře přijato jiné množství vzorků. Za každý měsíc jsem statisticky zpracovala četnost dat, které byly spojeny s chybným transportem. Údaje o přijatém počtu vzorků jsem rozdělila podle místa laboratoře. Do lochotínské části Fakultní nemocnice v Plzni bylo za jedno čtvrtletí (září 2020 – prosinec 2020) přijato větší množství vzorků než do borské části. Tento fakt potvrzují grafy č. 4., 6., 8. a 10., které zobrazují počet přijatých vzorků do jednotlivých částí laboratoře Fakultní nemocnice. Dále je zde pomocí tabulek přehledně zobrazena procentuální četnost u transportu, který přesáhl maximální časový limit pro transport materiálu do laboratoře, pro obě části Fakultní nemocnice. Kapitola 7.3 shrnuje veškerá statistická šetření a je zde potvrzen 2. předpoklad u kvalitativního výzkumu, který měl potvrdit která z částí Fakultní nemocnice v Plzni má delší čas pro transport materiálu. Graf 12 zobrazuje procentuální zastoupení nesprávného časového limitu pro transport materiálu mezi částmi nemocnice Bory a Lochotín. Část Bory má za následek až 64% chyb, který se týkají nesprávného časového limitu pro transport materiálu, což jsou přibližně  $\frac{2}{3}$  vzorků z celkového průměru pro transport materiálu v celé Fakultní nemocnici v Plzni. Na základě tohoto zjištění, může docházet v borské části Fakultní nemocnice k většímu ovlivnění výsledků. Tabulka č. 13 shrnuje veškerá data nasbíraná za celé čtvrtletí. V jednotlivých měsících lze v grafu 14 pozorovat % chybu transport vzorků do laboratoří. Borská část Fakultní nemocnice v Plzni neobstála celkem ve třech měsících. Lochotínská část Fakultní nemocnice v Plzni pouze jednou a to v měsíci listopad. V tomto měsíci byla evidována porucha a následné čištění potrubní pošty, což mohlo zapříčinit vzestup pozdě dodaných vzorků do lochotínské laboratoře. Celkový rozdíl v měsíci listopad mezi oběma částmi je pouze 15 vzorků. Je tedy zřejmé, že potrubní pošta, která je zavedena právě v lochotínské části Fakultní nemocnice, je více spolehlivým faktorem pro transport materiálu do laboratoře. Tento fakt je doložen i studií, která se v roce 2019 zabývala transporty a distribucí vzorků do laboratoře. (NYBO., a další, 2019) Díky tomuto výzkumu, jsem si ověřila a rovnou i zodpověděla 1. výzkumnou otázku. Otázka byla konkrétně zaměřena na systém potrubní pošty, a zdali je tento systém rychlejší a spolehlivější v distribuci vzorků

do laboratoře. Studie (GOMEZ-RIOJA, a další, 2013) se dále zabývala systémem potrubní pošty z jiného úhlu pohledu. Tato studie poukázala na zvýšené riziko většího výskytu vzniku mechanické hemolýzy. Proto jsem se rozhodla prokázat, jestli má systém potrubní pošty v lochtínské části Fakultní nemocnice v Plzni, značný vliv na vznik hemolytických vzorků. Porovnála jsem, jaká část Fakultní nemocnice vykazuje větší příjem hemolytických vzorků do laboratoře. Statisticky jsem zpracovala data za jednotlivá období (září 2020 – prosinec 2020) a rozřídila vzorky podle části nemocnice, kde byly přijaty. Dále jsem hemolytické vzorky rozdělila i podle vzniklé intenzity hemolytického zbarvení. Důležitý pro mě byl výsledek, který znázorňuje graf č. 16. Z celkového počtu 2398 přijatých vzorků, které byly hemolytické, přijala laboratoř Lochotín celkem 77% z celkového počtu. Tento výsledek zodpovídá druhou výzkumnou otázku v kvantitativním výzkumu. Dle mého názoru, nelze přesně určit, jestli hemolýza je způsobena potrubní poštou, která dopravuje vzorky do lochtínské laboratoře. Jelikož hemolýza séra je považována za nejčastější příčinu vzniku chyb, která vzniká v preanalytické části. Transport materiálu spadá do preanalytické části, ale není jediným aspektem, který může za vznik hemolytického séra. Hemolýza může nastat i při odběru materiálu, ke kterému může dojít například při znečištění odběrové jehly. Tento fakt je potvrzen studií, která se zabývala kvalitou vzorku krve (Lippi, a další, 2019).

V kvantitativním výzkumu jsem se zaměřila na hemolytické vzorky, které mohou způsobit ovlivnění výsledku a následně mohou tak změnit pohled na samotnou diagnózu pacienta. Celý kvantitativní výzkum jsem věnovala pozornost třem metodám, které do jisté míry ovlivňuje vzniklá hemolýza séra. Konkrétně se jedná o metody měřící hladinu aspartátaminotransferázy (AST), laktátdehydrogenázy (LD) a koncentraci draselných iontů ( $K^+$ ) v séru. Následně jsem svůj výzkum porovnála s (KOSEOGLU, a další, 2010), kteří zkoumali účinky interference hemolýzy na rutinní parametry biochemie. Cílem jejich výzkumu bylo odhalit účinek hemolýzy na biochemické metody a to v různých stupních hemolýzy. Pro vypracování svého výzkumu jsem nejprve vzorky hemolýzy rozdělila podle změřeného hemolytického indexu na jednotlivé stupně. Tyto stupně hemolýzy se lišily intenzitou vzniklé hemolýzy. V kapitole 8.1.1 – 8.1.3 jsem pomocí krabicového grafu, neboli boxplotu, vyhodnotila u jednotlivých metod rozdíl mediánu mezi vzorky bez a s hemolýzou. Díky Wilcoxonova testu jsem vypočetla hodnotu  $p$ , díky které se zjistí statistická významnost. Za statisticky významné se považuje hodnota  $p \leq 0,05$ . Za silně statisticky významné se považují hodnoty  $p \leq 0,01$ . Jednotlivé boxploty odpovídají různým

stupňům hemolytických vzorků. Dospěla jsem k výsledku, že mé měření je statisticky významným aspektem pro určení klinické významnosti u metod pro měření aktivity LD a koncentrace K. Obě metody jsou statisticky významné už při velmi slabé hemolýze. Metoda pro měření aktivity AST je statisticky velmi významná až od slabé hemolýzy. (KOSEOGLU, a další, 2010) naopak dospěl k jinému závěru. LD společně s AST byly ovlivněny velmi slabou hemolýzou a výsledek byl velmi statisticky významný, naopak klinicky významným aspektem pro K byl zaznamenán až u slabé hemolýzy. Výsledky rozdílů jsem převedla na % a porovnávala s výzkumem (Tanu, a další, 2015). Výzkum uvádí, že klinicky významné hodnoty naměřili u metod AST i LD. Došli k závěru, že procenta nad mediánem rostou s rostoucí hemolýzou. Stejně je tomu i v mém případě měření, kdy s rostoucí intenzitou hemolýzy roste i rozdíl vyjádřený v procentech. U draslíku tomu tak není. Hodnoty na sobě nejsou nijak lineárně závislé, ale jeho ovlivnění je velmi klinicky významné. Odpověď na výzkumnou otázku v kvantitativním výzkumu je různorodá a nelze ji přesně zodpovědět. Podle mého úsudku jsou lineárně ovlivněné metody AST a LD proto, jelikož se jedná o spektrofotometrické metody. Jejich princip měření je závislý na absorbanci světla, které prochází vzorkem. Draslík je sice ovlivněn, ale jeho ovlivnění není nijak na sobě závislé. Draselné ionty se měří na základě elektromotorické síly.

Zpracováním celé praktické části jsem splnila stanovené hlavní cíle. Získala jsem odpovědi na dílčí cíle, v diskuzi jsem potvrdila či vyvrátila stanovené předpoklady a zodpověděla jsem všechny výzkumné otázky.

## 10 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce pojednává o preanalytické fázi, která tvoří největší procento vzniklých chyb, které mohou ovlivnit výsledek laboratorního vyšetření. Tato část laboratorní fáze se stále zdokonaluje a vylepšuje, aby procento chyb bylo pokud možno co nejnižší a analýza vyšetření co nejkvalitnější a nejpravdivější. Za nejčastější důsledek špatné preanalytické části se považuje vznik hemolýzy. Hemolýza séra interferuje s různými metodami a díky jejímu vzniku, může být výsledek znehodnocen.

Údaje v bakalářské práci mohou být užitečné pro studenty v oboru zdravotní laborant. Práce může sloužit i pro nelékařské zdravotníky, kteří se zajímají o danou problematiku v rámci laboratorního vyšetření a následků vzniklých chyb.

## SEZNAM LITERATURY

**BUNEŠOVÁ, Martina a SKALICKÁ, Anna. 2008.** *Pracovní postup - preanalytická fáze laboratorního vyšetření.* Praha : Česká asociace sester, 2008. ISBN: 978-80-7262-574-1.

**DASYTCH, Milan a BREINEK, Petr. 2008.** *Klinická biochemie: bakalářský obor Zdravotní laborant.* Brno : Masarykova univerzita, 2008. ISBN: 978-80-210-4572-9.

**DRECHSLEROVÁ, Tat'ána. 2005.** *Cvičení z klinické biochemie.* Hradec Králové : Střední zdravotnická škola a Vyšší zdravotnická škola, 2005. ISBN: 80-903414-3-8.

**GIRI, Dhurba. 2020.** LaboratoryInfo. [Online] 2020. [Citace: 10. únor 2021.]  
www.laboratoryinfo.com.

**GOMEZ-RIOJA, Ruben, a další. 2013.** Google Scholar. *nterindividual variability of hemolysis in plasma samples during pneumatic tube system transport.* [Online] 2013.  
<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2013-0171/html>. DOI:  
<https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0171>.

**GUDER, Prof.Dr.med. Walter G. 2015.** *Pre-Examination procedures in laboratory diagnostics: Preanalytical aspects and their impact on the quality of medical laboratory results.* Mnichov : CPI books GmbH, Leck, 2015. e-ISBN (pdf): 978-3-11-033404-3.

**HEIREMAN, Laura, a další. 2017.** Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory,. 2017, Sv. 50, 18, stránky 1317-1322.

**ISHIGURO, Akiyo, a další. 2020.** What is the best wavelength for the measurement of hemolysis index? 2020, 510, stránky 15-20.

**JABOR, Antonín, Janka, FRANEKOVÁ a Zdeněk, KUBÍČEK. 2020.** *Principy interpretace laboratorních testů. 2., přepracované a doplněné vydání.* Praha : Grada Publishing, 2020. ISBN: 978-80-271-1272-2.

**JINDROVÁ, Hana, Markéta, KAJABOVÁ a Romana, CALÁBKOVÁ. 2012.** Vliv preanalytické fáze na biochemické laboratorní výsledky. 26. března 2012, Sv. 9, 3, stránky 137-140.

**KELNAROVÁ, Jarmila. 2009.** *Ošetřovatelství pro zdravotnické školy, 2.ročník.* Praha : Grada, 2009. ISBN: 978-80-247-3106-32.

- Kolektiv autorů. 2014.** Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi. *Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi – verze 12.* [Online] SEKK, s.r.o., Prosinec 2014. [Citace: 29. leden 2021.] <http://www.demo4.smitka.eu/encyklopedie/A/AJFTF.htm>. ISBN: 80-238-9775-6.
- KOMRSKOVÁ, J., a další. 2018.** Hemolytický index jako nástroj ke stanovení volného. 2018, Sv. 4, 26, stránky 173-177.
- KOSEOGLU, Mehmet, a další. 2010.** Effects of hemolysis interference on routine biochemistry parameters. *BiochemiaMedica*. [Online] 2010. [Citace: 30. Březen 2021.] <https://www.biochemia-medica.com/en/journal/21/1/10.11613/BM.2011.015>. DOI: 10.11613/BM.2011.015.
- KROLL, MH a ELIN, RJ. 1994.** Interference with Clinical Laboratory, Clinical Chemistry. 1. listopad 1994, Sv. 40, 11, stránky 1996-2005.
- Lippi, G., a další. 2019.** PubMed.gov. *Blood sample quality*. [Online] 2019. [Citace: 29. Březen 2021.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29794250/>. doi:10.1515/dx-2018-0018.
- NAVRÁTIL, Leoš. 2003.** *Vnitřní lékařství pro nelékařské fakulty*. Praha : Manus, 2003. ISBN: 80-86571-02-5.
- NOVÁK, František. 2002.** *Úvod do klinické biochemie*. Praha : Nakladatelství Karolinum, 2002. ISBN: 80-246-0366-7.
- NYBO., M, a další. 2019.** PubMed.gov. *Sample transportation - an overview*. [Online] 2019. [Citace: 29. Březen 2021.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30808159/>. PMID: 30808159.
- PECKA, Miroslav. 1995.** *Přehled laboratorní hematologie* . Praha : Galén, 1995. ISBN: 80-85824-28-0.
- RACEK, Jaroslav. c2006.** *Klinická biochemie. 2., přeprac. vyd.* Praha : Galén, c2006. ISBN 80-7262-324-9.
- ŠAMÁNKOVÁ, Marie. 2006.** *Základy ošetrovatelství*. Praha : Karolinum, 2006. ISBN: 80-246-1091-4.

**Tanu, GOYAL a Schmotzer, Christine L. 2015.** Oxford Academic, . *Validation of Hemolysis Index Thresholds Optimizes Detection of Clinically Significant Hemolysis.* [Online] Duben 2015. [Citace: 29. Březen 2021.]  
<https://doi.org/10.1309/AJCPDUDE1HRA0YMR>.

**TÓTH, Judit, a další. 2014.** Preanalitikai szempontok pneumatikus csőpostával szállított laboratóriumi minták esetén [Pneumatic tube system for transport of laboratory samples: preanalytical aspects]. *PubMed.gov.* [Online] 2014. [Citace: 29. Březen 2021.]  
<https://doi.org/10.1556/OH.2014.29895>. PMID: 25002315.

**ÚKBH FN Plzeň, Anonymní. 2003.** Ústav klinické biochemie a hemtaologie, Fakultní nemocnice Plzeň. [Online] 2003. [Citace: 10. únor 2021.]  
<https://ukbh.fnplzen.cz/cs/node/1232>.

**WikiSkripta, Příspěvatelé. c2018.** Biochemická analýza krve [online]. [Online] c2018. [Citace: 17. únor 2021.]  
[https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Biochemick%C3%A1\\_anal%C3%BDza\\_krve&oldid=396820](https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Biochemick%C3%A1_anal%C3%BDza_krve&oldid=396820).

**ZIMA, Tomáš. c2013.** *Laboratorní diagnostika. 3., dopl. a přeprac. vyd.* Praha : Galén, c2013. ISBN 978-80-7492-062-2.