







PŘÍRUČKA PRO SPRÁVNOU MANIPULACI SE VZORKY KRVE

SPRÁVNÁ MANIPULACE - SPRÁVNÉ VÝSLEDKY

DOPORUČENÁ VELIKOST JEHLY INJEKČNÍ STŘÍKAČKY PRO ODBĚR KRVE

Před odběrem vzorku krve zvolte správnou velikost jehly injekční stříkačky. Rozměry jehel se liší podle velikosti pacienta. Použijte jehlu s největším průměrem určeným velikostí žíly, abyste minimalizovali možnost hemolýzy. Buďte zvláště opatrní u nemocných zvířat, protože mohou mít křehké erythrocyty.











 <p>MALÁ zvířata (dospělá hmotnost do 30kg)</p>		22G
 <p>STŘEDNÍ zvířata (dospělá hmotnost 30kg - 60kg)</p>		20G
 <p>VELKÁ zvířata (dospělá hmotnost nad 60kg)</p>		18G

ODBĚROVÉ ZKUMAVKY

Po odběru krve injekční stříkačkou vyberte příslušné zkumavky pro každý typ diagnostického testu, který budete provádět.

Existuje více než 9 typů zkumavek používaných k odběru krve. Každá obsahuje jiný antikoagulant označený barvou zátky.

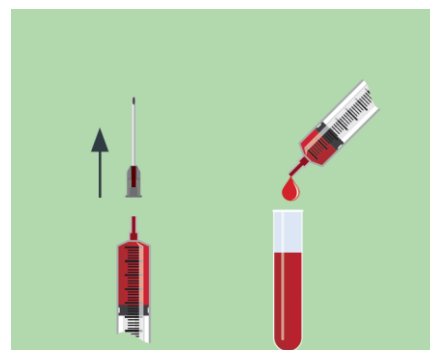
Existují dva různé barevné systémy, americký nebo EU.

Barevný systém označování zkumavek				
Antikoagulant	US 	EU 	Typ diagnostického testu	
Citrát sodný	modrá 	zelená 	Koagulace, Fibrinogen QuickVet	
S aktivátorem srážení (bez koagulantu)	červená 	bílá 	Sběr séra pro běžné biochemické stanovení Abaxis VetScan VS2	
Lithium heparin	zelená 	oranžová 	Plasma a biochemické vyšetření Abaxis VetScan VS2	
EDTA (K2, nebo K3)	fialová 	červená 	Hematologie (zachovává objem a morfologii buněk) Abaxis VetScan HM5	

PŘENOS VZORKU

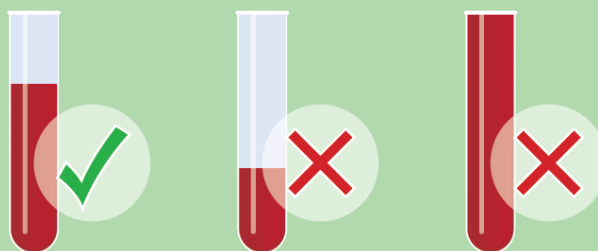
Odebíráte-li krev pomocí injekční stříkačky s jehlou, přeneste ji po odběru do příslušné zkumavky, nebo odeberte vzorek do příslušné odběrové zkumavky přímo.

- Než přenesete vzorek do zkumavky pro odběr krve ujistěte se, že jste odstranili víčko ze zkumavky a jehlu z injekční stříkačky, abyste zabránili hemolýze.
- Poměr krve k antikoagulanci je velmi důležitý:
 - Zkumavku s citrátem sodným naplňte vždy přesně označenou hladinu.
 - Zkumavky s EDTA a lithium heparinem naplňte alespoň z poloviny.



Zkumavku naplňte správně!

Ani příliš málo ani příliš málo.



Pokud do odběrové zkumavky neodeberete dostatek krve, může nastat:

- Falešný pokles hodnoty hematokritu v důsledku zředění krve.
- Falešný pokles hodnot některých analytů v důsledku zředění krve.
- Nepřesně změřené hodnoty MCV, MCH, MCHC a HGB.
- Změněný tvar červených krvinek: erythrocyty se zmenší kvůli vysoké osmolalitě antikoagulační tekutiny.
- Uměle prodloužená doba srážení.

Pokud do odběrové zkumavky odeberete příliš mnoho krve (přeplníte ji), vytvoří se sraženiny.

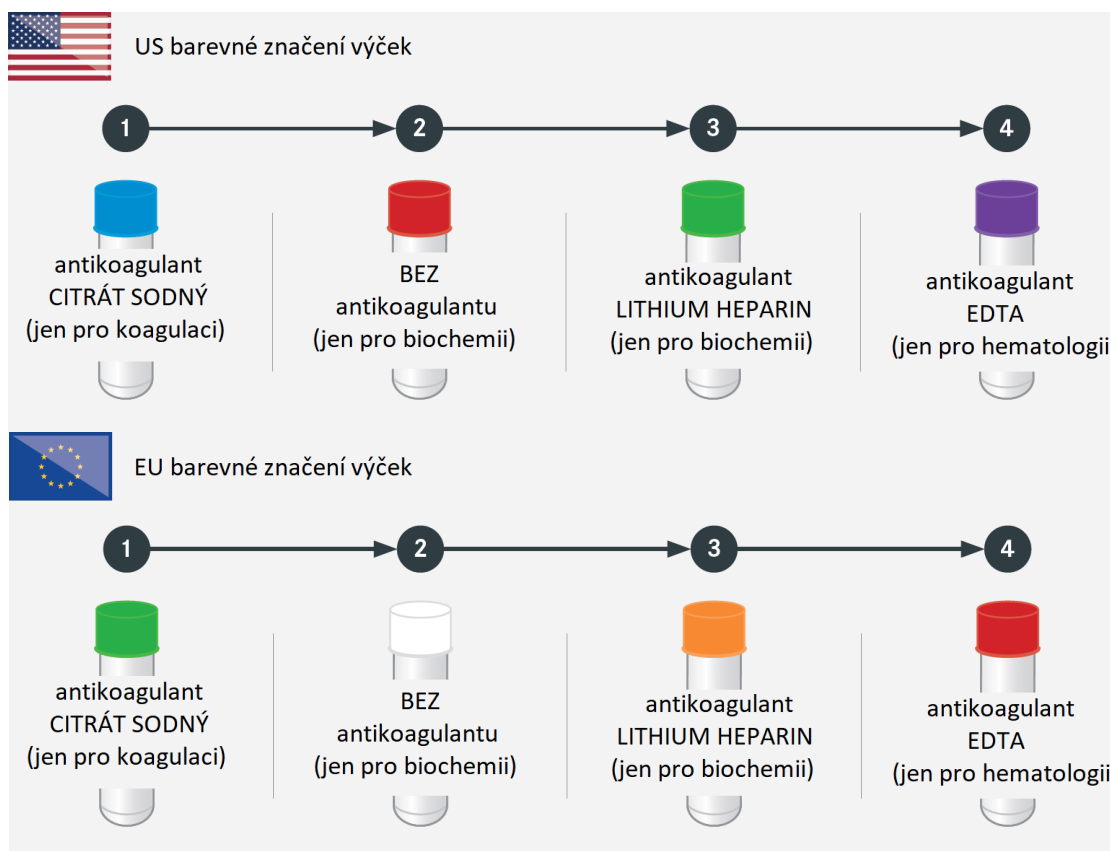
- V tomto případě mohou být vytvořené sraženiny příliš malé, aby byly viditelné, ale mohou ovlivnit výsledky.

Poznámka: Pokud používáte vakuový vak, plňte zkumavku, dokud není vakuum vyčerpáno.

POŘADÍ PLNĚNÍ ZKUMAVEK PŘI PROVÁDĚNÍ VÍCE DIAGNOSTICKÝCH TESTŮ Z JEDNOHO VZORKU

Doporučuje se dodržovat správné pořadí plnění různých typů zkumavek, aby nedocházelo ke křížové kontaminaci přísad zkumavek.

- Nejprve se naplní zkumavka s citrátem sodným a následuje zkumavka bez antikoagulantu, zkumavka s lithiem heparinem a EDTA zkumavka naposledy.
- Nedodržení pořadí plnění může vést ke kontaminaci vzorků krve přídatnými látkami a vést tak k neplatným výsledkům zásadních biochemických parametrů.



PROMÍCHÁNÍ VZORKU

Kdy: **Okamžitě** po odběru.

Proč: Aby došlo ke **správnému promíchání** krve s antikoagulantem.

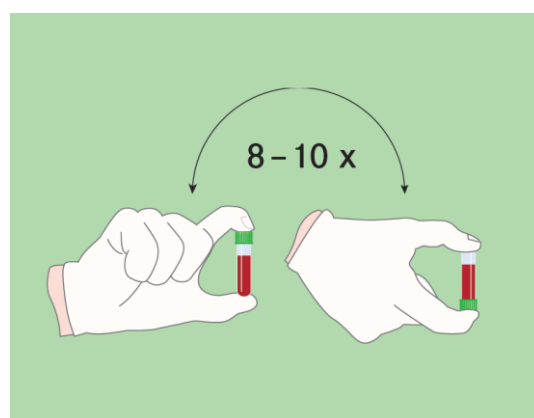
Abyste **zabránili tvorbě sraženin**, které mohou ovlivňovat počty buněk.

Jak: Uchopte zkumavku do svislé polohy, **jemně** otočte ji o 180 stupňů a zpět. Otáčení opakujte 8 - 10 krát, abyste zajistili, že je obsah zkumavky důkladně promíchán.

Budte opatrní: **Vyvarujte se protřepávání vzorků.**

To může vést k hemolýze. **Nepřenášejte** krev z jedné zkumavky do druhé, např. EDTA do Lithium heparinu.

Pokud není vzorek řádně promíchán: Dojde-li ke vzniku krevních sraženin ve zkumavce, musí být vzorek opakovaně odebrán. Pokud je vzorek příliš intenzivně míchán může dojít k hemolýze.



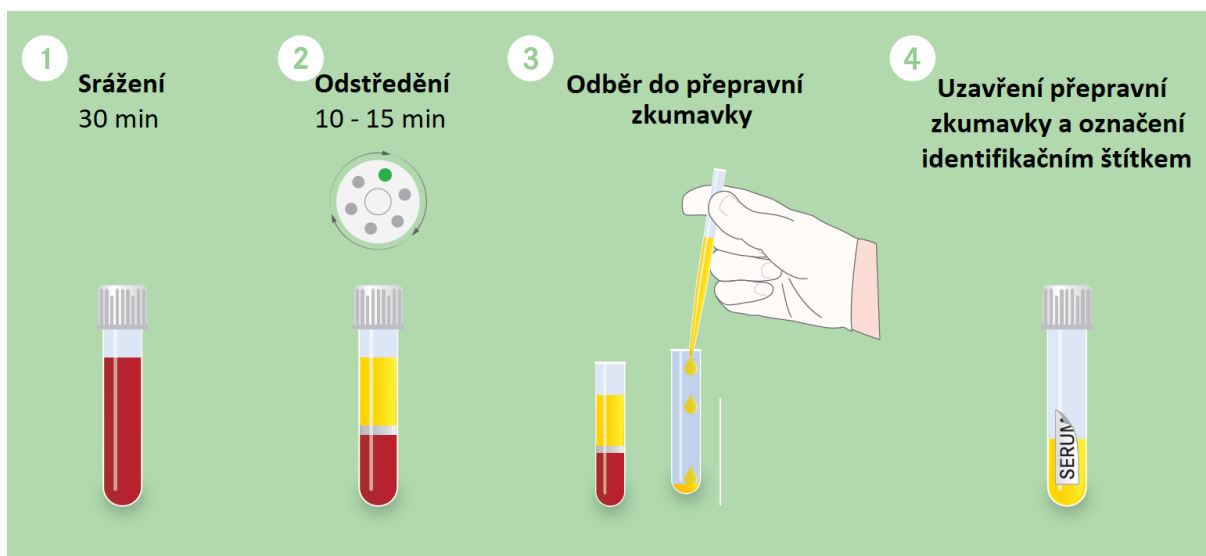
ODSTŘEDĚNÍ

Sérum

- Po odběru krve do zkumavky bez antikoagulantů, nechte vzorek srážet po dobu 30 minut při pokojové teplotě.
- Pomocí dřevěné tyčinky aplikátoru oddělte sraženinu ze stěn zkumavky.
- Odstředěte. Odeberte sérum.

Plazma:

- Hned po odběru do zkumavky s EDTA nebo Lithium heparinem vzorek odstředěte. Odeberte plazmu.
- Standardní doporučení pro odstředění:



Příprava	Antikoagulant	Čas (min)	Otáčky	Teplota
Sérum	Žádný	10	2000 x g	18 - 25 °C
Plasma	Lithium heparin	10	2000 x g	18 - 25 °C
	EDTA	10	2000 x g	18 - 25 °C

UCHOVÁVÁNÍ PO PŘÍPRAVĚ VZORKU

Uchovávání při pokojové teplotě: Analyzujte plnou krev odebranou do lithium heparinu v průběhu 60 minut, plnou EDTA krev - do 3 - 4 hodin, plazmu nebo sérum - do 5 hodin.

Upozornění: Uchovávání plné krve nebo odstředěného, ale neodděleného séra nebo plazmy (umožňující dlouhodobý kontakt s buňkami) může vést k hypoglykémii, hyperkalemiím a hemolýze.

Skladování při 2 - 8 °C: EDTA plná krev: 8 hodin, plazma nebo sérum: 24 - 48 hodin.

Skladování při min. -10 °C (zmrazeno): Nevhodné pro plnou krev, pro plazmu nebo sérum: 5 týdnů.

Vzorek	Pokožová teplota	2 - 8 °C	Min. -10 °C
Lithium heparin	1 hodina	ne	ne
EDTA	3 - 4 hodiny	8 hodin	ne
Plasma / Sérum	5 hodin	24 - 48 hodin	5 týdnů

CHYBY ZPRACOVÁNÍ VZORKU

1) HEMOLÝZA

Co je to?

- Stěna červené krvinky se poruší a uvolňuje buněčné složky: enzymy, elektrolyty a hemoglobin.
- Může ovlivňovat výsledky kvůli své červené barvě.
- Koncentrace K⁺, LDH, AST a celkového proteinu může být nesprávně zvýšena.

Proč se to stane?

Důvody pro hemolýzu jsou obvykle nesprávné zpracování vzorku:

- Přenos krev přes jehlu injekční stříkačky silou do zkumavky.
- Příliš silné promíchání vzorku ve zkumavce.
- Vpich do žíly předtím, než dostatečně oschne místo odběru desinfikované alkoholovým tamponem, což způsobí, že se alkohol smíchá se vzorkem.
- Pěnění krve, když je hrot jehly pouze částečně zasunuto do žilního řečiště.

Techniky k prevenci hemolýzy.

- Promíchejte zkumavky s antikoagulačními přísadami jemně 8 - 10 krát.
- Vyhněte se krvácení z hematomu; vyberte jiné místo k odběru.
- Pokud používáte jehlu a injekční stříkačku, vyvarujte se přílišnému tlaku na píst.
- Ujistěte se, že je místo odběru suché předtím, než budete pokračovat v odběru.
- Vyvarujte se vyšetření, traumatické venepunktury.
- Vyvarujte se delšího použití škrtilidla (ne více než 2 minuty, optimální je méně než 1 minuta).

2) LIPÉMIE

Co je to?

- Vysoká koncentrace triacylglycerolů v krvi, která vede k zakalenému séru.
- Může zasahovat do všech chemických reakcí, protože mléčná plazma narušuje absorpci světla.
- Může falešně snížit koncentrace určitých analytů, například elektrolytů.

Jak zabránit?

Připomeňte zákazníkovi, aby nekrmil svého domácího mazlíčka nejméně 10 hodin před jejich vyšetřením, aby se zabránilo lipémii.

Vyhodnocení vzorku pro spolehlivý výsledek.

Hemolýza a lipémie mohou interferovat s měřeními analytů prostřednictvím fyzikálních a chemických interakcí. Rušení může způsobit nesprávně zvýšené nebo nesprávně snížené výsledky. To vede k nesprávné diagnóze a léčbě s potenciálně nepříznivými výsledky pro pacienta.

Standardní postup pro kontrolu kvality vzorku je vizuální vyhodnocení vzorku. Vyhodnoťte plazmu nebo sérum pro příznaky hemolýzy nebo lipémie. Na základě odchylky od normální barvy (jasné, žluté) se můžete rozhodnout, zda budete pokračovat s tímto vzorkem nebo odeberete nový.

Věděli jste, že?

Analyzátor VetScan VS2 provádí řadu více než 150 vnitřních kontrol kvality a poskytuje specifické informace o stupni hemolýzy, lipémie, hyperbilirubinémie a jejich vlivu na výsledek testu. Vždy si můžete být jisti, že při použití biochemického analyzátoru VetScan VS2 získáváte pouze spolehlivé, vysoce kvalitní výsledky.

Při každé analýze systém inteligentního řízení kvality analyzátoru VetScan VS2 kontroluje kvalitu každého vzorku krve a hlásí naměřené hodnoty pro každou fyzickou interferenci. Indexy vzorků jsou vytištěny na konci každého výsledku s cílem informovat obsluhu o úrovních interferencí přítomných v každém vzorku. Tyto ukazují stupeň lipémie, hemolýzy a ikteru ve vzorku, měřený na stupnici od 0 (žádný), 1+ (lehký), 2+ (silný) a 3+ (velmi silný). Stupeň 3+ nemusí nutně způsobit potlačení výsledku VS2.

Poznámka:

Lipémii ze vzorku lze odstranit pomocí odběrové zkumavky LipoClear.

- HEM / LIP / ICT 0 znamená vůbec žádné ovlivnění
- HEM / LIP / ICT 1+ znamená mírné ovlivnění atd.

QC	OK		
HEM 0	LIP 1+	ICT 0	

3) IKTERUS

Ikterus (ICT): I když Ikterus není způsoben chybami při manipulaci se vzorky, ikterus ve vzorcích krve může způsobit interference, které mohou ovlivnit kvalitu výsledků.

Co je to?

Zvýšení bilirubinu v krvi (hyperbilirubinémie). Může zasahovat do výsledků kvůli žluté / oranžové / hnědé barvě. Koncentrace alkalické fosfatázy, celkového proteinu a chloridu může být falešně zvýšena. Koncentrace triglyceridu a kreatininu může být nesprávně snížena.

Dobrá zpráva pro uživatele hematologického analyzátoru VetScan HM5:

Výhodou metody impedance implementované v analyzátoru VetScan HM5 je správné počítání buněk nezávisle na hladině lipémie a ikteru.

ČASTÉ OTÁZKY

Mohu použít nějaký jiný antikoagulant k provádění biochemické analýzy?

Chcete-li získat správný výsledek biochemické analýzy, používejte pouze zkumavky s lithium heparinem (celá krev nebo plazma) nebo vůbec žádný antikoagulant (sérum).

Proč?

Citrát sodný a heparin sodný obsahují Na^+ . Tím se falešně zvýší koncentraci Na^+ ve vzorku.

EDTA je obvykle sůl s draslíkem. Použití EDTA bude falešně zvyšovat koncentraci K^+ . EDTA také váže Ca^{2+} a Mg^{2+} . To vede k falešnému poklesu koncentrace Ca^{2+} a Mg^{2+} .

A co hematologie?

Pro hematologii je důležité zachovat velikost a morfologii buněk. Toho lze dosáhnout pouze s antikoagulantem EDTA. Všechny ostatní antikoagulanty zabrání koagulaci, ale také změni velikost buněk.

Používal jsem EDTA zkumavky pro hematologii, ale u červených krvinek docházelo ke zmenšování.

Erytrocyty mohou snížit jejich objem v buňce, pokud je poměr krve k EDTA špatný: příliš mnoho EDTA, s nedostatkem krev. Dávejte pozor na správné plnění zkumavek nebo zkuste vakuové zkumavky.

Pokyny pro použití zkumavek dodané dodavatele obsahují pokyny, které se liší od pokynů v této příručce.

Co bych měl dělat?

Tato příručka je navržena tak, aby poskytovala návod, jak zpracovávat vzorky krve, aby bylo zajištěno co nejlepší výsledky. Konkrétní výrobci mohou mít pokyny, které se liší od této příručky; pro odběr krve pak postupujte podle pokynů pro použití zkumavek od dodavatele zkumavek.

PŘÍKLADY SPECIÁLNÍCH ODBĚRŮ KRVE U PTÁKŮ

Analýza z plasmy:

Odběr se provádí inzulinou a ihned se krev přenesse do kónické eppendorfky, kam byl přidán heparin. Krev se nechává odstát půl hodiny a důkladně se odstřeďuje.

Analýza z plné krve:

Do odběrové stříkačky s nasazenou jehlou se před odběrem natáhne heparin a ten se pak ze stříkačky vytlačí ven. Analýza vzorku se provede neprodleně po odběru.

Ptačí krev je velice náchylná na srážení. Pokud při vizuální kontrole vzorku po odběru sledujete, že krev má tendenci se srážet nedávejte ji do rotoru, pokuste se ji stočit na plasmu.

Krev je možné odebrat též do heparinizovaných kapilár s mandrenem (obsah kapiláry alespoň 100 μ l).