

Ghid de prevenire a erorilor de laborator in faza preanalitica

Mihai Bujor Grecu¹, Daniela Stefania Grecu²

359

Obtinerea cat mai rapida a unor rezultate de laborator corecte implica si din partea clinicianului cunoasterea principiilor dupa care se desfasoara procesul de testare. Acesta cuprinde trei faze:

1. Faza preanalitica (extra si intra laborator).
2. Faza analitica
3. Faza postanalitica

Daca ultimele doua sunt mai mult in atentia personalului din laboratorul clinic, prima tine aproape in totalitate de pacient, asistentul medical si clinician.

Odata cu automatizarea tot mai mare a lucrului in laborator si a aplicarii pe o scara tot mai larga a unor politici de management a calitatii, sursa celor mai multe erori a devenit faza preanalitica. Exista chiar studii care au aratat ca ponderea erorilor legate de aceasta faza, din totalul erorilor aparute in procesul de testare, ajunge pana la 80% (1,2,3).

Faza preanalitica este rezultatul unei insirui de etape, asa cum sunt pregatirea pacientului, recoltarea probelor biologice, transportul acestora la laborator si depozitarea lor. Parcurgerea acestor etape presupune desfasurarea unor procese si impune utilizarea unor materiale specifice (tabel nr.1)(4).

1 UPU, Spital Clinic de Urgenta Judetean Timisoara

2 Catedra de Biochimie UMF „Victor Babes” Timisoara

Autor-corespondent: Mihai Bujor Grecu, tel. +40 748331150, email: grecumihai@yahoo.com, b-dul Iosif Bulbuca, nr.10, Timisoara

Tabel nr.1 Procesele si materialele fazei preanalitice (in afara laboratorului)

Etapa	Proces	Materiale
Pregatirea pacientului	Instruire cu privire la dieta si procedurile de recoltare	Pliante, instructiuni pentru autorecoltarea/recoltarea probelor biologice
Pregatirea recoltării probelor biologice	Completarea cererii de analize, alegerea recipientelor de recoltare	Buletin solicitare analize, program de recoltare, sistem de identificare probe
Recoltarea probelor biologice	Identificare pacient, alegerea momentului recoltării, aplicarea procedurilor necesare obtinerii probelor biologice	Ace, recipiente, dezinfectant
Transportul probelor biologice	Procedee de transport probe	Containere speciale de transport, sisteme de racire
Depozitarea probelor biologice	Timp de depozitare, selectia temperaturii si locului de depozitare, utilizarea dupa depozitare	Frigidere, congelatoare, instrumente de control a temperaturii

1. Pregatirea pacientului pentru recoltarea probelor biologice

Trebuie avut in vedere faptul ca exista o serie de variabile intrinseci, asa cum sunt sexul, varsta, rasa sau sarcina, ce pot influenta rezultatele determinarilor de laborator⁴. Din acest motiv, pentru unii analiti, interpretarea rezultatelor se face in functie de intervalele biologice de referinta aferente varstei sau sexului.

Exista si factori extrinseci ce pot duce la modificari ale rezultatelor la unele teste de laborator. In acest caz, se pot enumera alimentatia, fumatul, postul, exercitiul fizic sau altitudinea. In general, pentru a se evita interpretarea eronata a datelor de laborator, recoltarea probelor biologice se va face dupa 12 ore de post si activitate fizica redusa.

Medicamentele, unele procedee sau proceduri diagnostice sau terapeutice la care este supus pacientul isi pot exercita efectele si asupra testelor de laborator. Recoltarea probelor biologice se va face, de preferinta, inaintea procedurilor diagnostice sau terapeutice. Din pacate atat in urgenta cat si in sectiile de terapie intensiva acest lucru nu este intotdeauna posibil. In acest caz informatiile relevante obtinute din anamneza pacientului precum si din documentatia care il insoteste vor trebui consemnate atat pe buletinul de

solicitare cat si pe buletinul cu rezultatele testelor de laborator astfel incat ele sa fie interpretate si ulterior tinand cont de acesti factori.

2. Recoltarea probelor biologice

Pregatirea recoltarii probelor biologice

Primul pas este reprezentat de completarea cererii de analize, cerere care trebuie realizata intr-un format standard si care trebuie sa contina date de identificare a pacientului (nume, prenume pacient, CNP), solicitantul investigatiilor, natura probei si locul anatomic de provenienta (daca se impune), analizele solicitate, data si ora recoltarii, data si ora receptiei probei in laborator, mentiuni speciale (se vor trece variabilele care tin de pacient si care pot influenta rezultatul investigatiei).

Toate acestea fac din existenta si aplicarea unor proceduri clare de recoltare si management al probelor biologice o necesitate. Avand in vedere ca marea majoritate a probelor biologice destinate testarii in laboratorul clinic sunt reprezentate de specimene de sange venos, vom exemplifica in continuare un model de procedura⁵.

Accesorii (materiale necesare recoltarii)

Accesoriile trebuie sa fie disponibile in orice locatie in care se efectueaza punctia venoasa:

- carucioarele utilitare: trebuie sa fie proiectate astfel incat sa fie usor manevrabile si sa permita depozitarea temporara a echipamentelor necesare
- tavile si stativele de colectare a sangelui: simple, usoare, cu spatii si compartimente suficiente pentru diferitele echipamente necesare
- manusi: latex, vinil, nitril. Unele persoane pot face dermatite de la purtatul manusilor de latex. In acest caz trebuie sa se foloseasca manusi de nitril, polietilen sau manusi de bumbac (sub manusile de latex sau de plastic)
- ace si holdere: acele si holderile trebuie sa fie compatibile cu tuburile de recoltare folosite. Dimensiunile acelor pentru punctia venoasa variaza de la 19G la 23G. Acele trebuie sa fie intotdeauna sterile.
- siringile sterile: in general recoltarea cu ac si siringa trebuie evitata din motive de siguranta. Uneori este necesar sa fie disponibile si siringi sterile de diferite dimensiuni.
- tuburi de recoltare a sangelui venos: acestea sunt sterile si concepute pentru a obtine un volum predeterminat de sange.
- garouri: in locatia in care se face recoltarea trebuie sa se gaseasca garouri. Acestea pot fi:

- *garouri de unica utilizare, preferabil fara latex
 - *garouri de tip cauciuc/textile, cu sistem de inchidere
 - *manseta de tensiometru cu o presiune aplicata de 40 mm Hg
- Garourile trebuie indepartate imediat in cazul contaminarii sau suspectarii contaminarii cu sange sau cu alte lichide.
- antiseptice: pentru pregatirea zonei de punctie sunt necesare antiseptice, ca de exemplu:
 - *alcool izopropilic sau alcool etilic 70%
 - *povidona iodura 1-10% pentru badijonaj sau gluconat de clorhexidina pentru hemoculturi
 - *dezinfectant fara alcool in cazul testarii alcoolului in sange (ex. clorhexidin)
 - tampoane de tifon, preambalate: trebuie evitate tampoanele de vata deoarece acestea pot disloca dopul plachetar de la nivelul punctiei venoase
 - container rezistent la intepaturi: conform reglementarilor in vigoare
 - gheata sau frigider
 - bandaje adezive
 - dispozitive de incalzire
 - manual de referinta al testului, ce trebuie sa contina urmatoarele informatii: tipul tubului de recoltare, volumul minim necesar de sange, manevrarea speciala, precautiile ce trebuie avute in vedere⁵

Procedura punctiei venoase

Persoana desemnata pentru a efectua punctia venoasa trebuie sa parcurga urmatoarele etape pentru recoltarea sangelui venos:

- a) sa pregateasca formularul de primire;
- b) sa identifice pacientul;
- c) sa verifice restrictiile de dieta ale pacientului;
- d) sa asambleze echipamentele necesare si sa aleaga tuburile de recoltare corespunzatoare;
- e) sa aseze pacientul;
- f) sa aplice garoul, sa se asigure ca mana pacientului este inchisa si sa aleaga locul de punctie;
- g) sa-si puna manusile;
- h) sa curete locul de punctie;
- i) sa efectueze punctia venoasa si imediat ce sangele incepe sa curga sa ceara pacientului sa deschida mana;
- j) sa foloseasca ordinea corecta de recoltare;
- k) sa elibereze si sa indeparteze garoul;

- l) sa aplice un tampon peste locul de punctie venoasa;
- m) sa indeparteze acul actionand sistemul de siguranta, conform instructiunilor producatorului;
- n) sa aplice presiune pe locul de punctie, sa se asigure ca sangerarea s-a oprit si sa bandajeze bratul;
- o) sa eticheteze tuburile si sa inregistreze ora recoltarii;
- p) sa raceasca proba biologica (daca este cazul);
- q) sa trimita tuburile cu sange, etichetate corect, la compartimentele corespunzatoare din laborator (5).

Recomandari tehnice

a) Pregatirea formularului de primire

Orice solicitare de recoltare trebuie sa fie analizata pentru a se identifica toate formularele si echipamentele necesare pentru pacientul respectiv.

Formularul de solicitare a analizelor trebuie sa contina urmatoarele informatii:

- numele, prenumele si varsta pacientului
- un numar de identificare
- data si ora cand a fost obtinuta proba
- un numar de intrare
- numele medicului
- departamentul sau locatia in care se face recoltarea
- mentiuni speciale.

b) Identificarea pacientului

Identificarea pacientului este foarte importanta pentru ca punctionistul trebuie sa se asigure ca proba recoltata apartine pacientului notat pe formularul de solicitare a analizelor.

Persoana care face punctia venoasa nu va recolta nici o proba biologica daca nu are acceptul pacientului sau a tutorelui (dupa caz).

Toate obiectiile din partea pacientului se raporteaza medicului/asistentei. Abordarea pacientului difera in functie de statusul mental.

Pacientul constient: in acest caz sunt sugerate urmatoarele etape:

- se cere pacientului sa-si dea numele complet, adresa, CNP (cel mai corect aceste date se iau din actul de identificare);
- se compara aceste informatii cu cele existente pe formularul de solicitare;
- orice neconcordanza sesizata se clarifica inaintea recoltarii probei biologice.

Pacientul comatos, inconstient sau care doarme:

- se iau toate masurile necesare pentru a anticipa orice miscare necontrolata din partea pacientului (fie in timp ce se introduce acul in vena, fie in timp ce acul este in vena);
- pacientul care doarme trebuie trezit inaintea recoltarii probei biologice;
- pacientul trebuie identificat inaintea recoltarii probei biologice cu ajutorul asistentei sau a medicului.

Pacientul semiconstient, prea tanar, incompetent mental sau care nu comunica in aceeasi limba cu punctiionistul:

- se solicita unui apropiat sau dupa caz, asistentei sau medicului, sa identifice pacientul;
- se compara aceste informatii cu cele de pe formularul de solicitare a testelor si dupa bratară de identificare a pacientului;
- se raporteaza persoanei responsabile orice neconcordanța sesizata, astfel incat pacientul sa fie identificat inaintea recoltarii probei biologice.

Pacientul neidentificat, in urgenta

- se atribuie pacientului un numar de identificare temporar
- se aleg formularele corespunzatoare testelor solicitate si se inregistreaza cu numarul de identificare;
- se completeaza cu etichete necesare care se aplica pe formularele de solicitare si pe probele biologice;
- se atribuie numar de identificare permanent acordandu-se atentie transcrierii corecte a datelor de identificare temporara.

c) Verificarea restrictiilor de dieta ale pacientului

Unele teste necesita ca pacientul sa nu fi mancat sau sa elimine din dieta anumite alimente inainte ca proba sa fie recoltata.

d) Ordonarea accesoriilor

Toate accesoriile utilizate la recoltarea sangelui trebuie inspectate in vederea depistarii eventualelor defecte si in privinta datei de valabilitate.

In locatia in care se efectueaza in mod obisnuit punctia venoasa trebuie sa existe:

- tuburi de recoltare a sangelui
- ace si holdere
- siringi
- dispozitive de transfer pentru siringa
- garouri
- tampoane pregatite cu alcool sau tampoane cu povidona-iodura sau compusi de clorhexidina (daca urmeaza sa se recolteze hemocultura)

- dezinfectant fara alcool daca urmeaza sa se recolteze probe pentru al-coolemie
- bandaje adezive
- manusi
- containere pentru obiecte ascutite

Acul se va alege de grosime corespunzatoare particularitatilor fizice ale pacientului, pozitiei venei si volumului de sange ce urmeaza a fi recoltat.

Siringa: se misca pistonul pentru a observa libertatea sa de miscare si pentru a depista o eventuala blocare a siringii sau acului.

Sistemul de recoltare: punctiionistul trebuie sa aleaga sistemul de recoltare corespunzator in functie de particularitatile fizice ale pacientului

Tuburile de recoltare: trebuie alese corespunzator testului (tip si dimensiune), trebuie sa se aplice o eticheta la fiecare din tuburile necesare, etichetarea trebuie facuta imediat ce proba de sange a fost recoltata, inainte ca proba sa plece de langa pacient, trebuie sa existe un sistem de identificare a persoanei ce a facut recoltarea

e) Pozitionarea pacientului

Procedeu pentru pacientul in pozitie sezand:

- se cere pacientului sa se aseze intr-un scaun corespunzator pentru punctia venoasa (care sa ofere sprijin pacientului daca isi pierde cunostinta);
- se cere pacientului sa intinda bratul la care se va face recoltarea, cu sustinere pe bratul scaunului;
- se cere pacientului sa nu indoie bratul foarte mult.

Procedeu pentru pacientul in pozitie culcat:

- se cere pacientului sa stea pe spate intr-o pozitie confortabila;
- se pune o perna sub bratul din care se face recoltarea (daca este necesar);
- se cere pacientului sa intinda bratul pentru a forma o linie dreapta de la umar la incheietura mainii.

In momentul recoltarii probei pacientul nu trebuie sa aiba in gura alimente, guma de mestecat sau termometru.

f) Aplicarea garoului

Aplicarea garoului asigura cresterea umplerii venoase ceea ce face vena mai proeminenta si mai usor de abordat.

Aplicarea garoului pentru alegerea venei nu trebuie sa depaseasca 1 minut (se evita astfel hemoconcentrarea, infiltrarea sangelui in tesut). Daca pacientul are o problema la nivelul pielii, garoul poate fi aplicat peste halat sau se poate folosi o bucata de tifon.

Pozitionarea garoului: 7.5 – 10 cm deasupra locului punctiei venoase.

Daca se utilizeaza manseta tensiometrului, se va aplica o presiune de 40 mm Hg.

Inchiderea pumnului: pomparea prea viguroasa a pumnului poate duce la modificari ale concentratiei unor analiti.

Alegerea venei:

- venele se aleg cu atentie deoarece sunt o cale de acces si pentru perfuzii, transfuzii sau de administrare a unor produse terapeutice;
- pentru punctia venoasa pot fi folosite venele cubitale mediane (situata mai aproape de suprafata pielii, mai stationara, mai putin dureroasa la insertia acului si este mai putin probabila lezarea unor nervi daca plasarea acului este defectuoasa), venele cefalice si venele de pe partea dorsala a mainii;
- pentru punctia venoasa nu trebuie folosite venele de pe partea ventrala a incheieturii, venele de la glezna sau de la nivelul extremitatilor inferioare (pentru acestea se va cere permisiunea medicului).

Procedura pentru alegerea venei:

- localizarea venei se va face prin palpare si urmarirea traiectului venei de cateva ori;
- pentru alegerea preliminara a venei poate fi folosit un garou dar acesta trebuie eliberat si reaplicat dupa 2 minute.

g) Manusile de protectie

Persoana care punctioneaza trebuie sa-si puna manusi inainte de efectuarea punctiei venoase, pentru fiecare pacient.

h) Dezinfectia locului de punctie

Previne contaminarea microbiologica atat a pacientului cat si a probei biologice

Metode de dezinfectie:

- folosirea unui tampon cu alcool izopropilic 70% sau a unui tampon cu alcool gata pregatit (disponibil comercial);
- dezinfectia zonei se face cu o miscare circulara de la centru catre periferie;
- zona dezinfectata este lasata apoi sa se usuce la aer (se previne astfel hemoliza si disconfortul pacientului determinat de senzatia de arsura cand este efectuata punctia).

i) Efectuarea punctiei venoase

Procedura punctiei venoase cand se folosesc holdere:

- se introduce acul in holder (daca nu este preambalat);
- se asigura pozitia bratului (orientat in jos pentru a preveni refluarea);
- se ataseaza acul/holderul la tubul de recoltare;
- se tine bratul pacientului fix, distal de locul unde se intentioneaza punctiunea (degetul mare va fi cu 2.5 – 5 cm deasupra locului punctiei venoase);
- se pregateste pacientul informandu-l ca urmeaza efectuarea punctiei;
- se punctioneaza vena la un unghi de insertie al acului de 30° sau mai putin; se pastreaza acul in vena cat mai stabil posibil, se conecteaza primul tub la ac si se mentine tubul sub locul de punctie cand acul este in vena;
- se da drumul garoului imediat dupa ce sangele incepe sa curga; nu se modifica pozitia tubului pana cand acesta nu este indepartat de la ac; in timpul recoltarii nu este permis contactul intre sangele din tub si dopul tubului;
- se lasa tubul sa se umple pana cand vacuumul este epuizat si curgerea sangelui inceteaza; in acest fel pentru tuburile cu aditivi se asigura un raport corect intre sange/aditiv.

Cand se foloseste principiul de aspirare si nu vacuumul, se trage usor inapoi pistonul pana cand acesta atinge baza tubului (in felul acesta se asigura un raport corect intre sange si aditiv).

Cand sangele nu mai curge se indeparteaza tubul de la ac, se acopera partea acului care inteapa dopul, se opreste curgerea sangelui pana cand tubul este atasat la ac/holder; pentru probe suplimentare se reia procedura; ultimul tub (sau dupa caz unicul) se deconecteaza de la ac inaintea scoaterii acului din vena.

Imediat dupa recoltarea fiecarui tub care contine aditiv, se asigura omogenizarea amestecului sange/anticoagulant prin rasturnarea tubului de 5 – 10 ori; nu se agita puternic pentru a se evita producerea hemolizei.

Pentru tuburile care au folosit principiul de aspirare, se blocheaza pistonul la baza tubului si se inchide brusc dupa amestecare.

Procedura punctiei venoase cand se foloseste siringa:

- se asambleaza acul cu siringa;
- se tine bratul pacientului fix, distal de locul unde se intentioneaza punctiunea (degetul mare va fi cu 2.5 – 5 cm deasupra locului punctiei venoase);
- se pregateste pacientul informandu-l ca urmeaza punctia;

- se puncioneaza vena sub un unghi de insetie de 30° sau mai mic;
- se scoate usor volumul de sange dorit tinand acul cat mai stabil in vena;
- se da drumul la garou imediat ce sangele incepe sa curga;
- se foloseste aceasi ordine de recoltare ca la sistemul de recoltare cu tub;
- se scot dopurile la tuburile de recoltare si se transfera cantitatea de sange corespunzatoare in fiecare tub pentru asigurarea unui raport corect intre sange si aditiv;
- se ataseaza dopurile la tuburile de recoltare;
- se omogenizeaza sangele cu aditivul prin rasturnarea tuburilor.

j) Ordinea de recoltare

Atunci cand se recolteaza mai multe probe biologice in timpul unei singure punctii venoase, folosind sistemul holder, ordinea de recoltare a tuburilor este urmatoarea:

1. tub pentru hemocultura
2. tub pentru ser cu/fara activator de coagulare, cu/fara gel (dop rosu)
3. tub pentru coagulare (dop albastru)
4. tub cu heparina cu sau fara gel separator de plasma (dop verde)
5. tub cu EDTA (dop mov)
6. tub cu inhibitor glicolitic (dop cenusiu)
7. tub cu citrat pentru VSH (dop negru)

Atunci cand se foloseste siringa, transferul sangelui incepe cu tubul pentru testele de coagulare (6).

k) Eliberarea garoului

Dupa ce sangele incepe sa curga, se elibereaza garoul (cat mai repede posibil).

l) Aplicarea tamponului

Un tampon curat, din tifon, trebuie pus deasupra locului punctiei venoase. Nu se recomanda utilizarea tampoanelor de vata.

m) Indepartarea si aruncarea acului

Se indeparteaza acul si se activeaza sistemul de siguranta conform instructiunilor producatorului.

Se arunca intr-un container pentru obiecte ascutite in acord cu reglementarile in vigoare.

n) Aplicarea presiunii la locul de punctie si bandajarea bratului

Se aplica tamponul deasupra locului punctiei si pacientul continua sa preseze usor

Persoana care punctioneaza trebuie sa verifice daca sangerarea s-a oprit, sa observe eventuala aparitie a unui hematom si sa aplice un adeziv sau un bandaj.

Pacientul va pastra bandajul deasupra locului de punctie cel putin 15 minute.

o) Etichetarea tuburilor cu probe de sange si inregistrarea orei de recoltare

Tuburile cu probe de sange trebuie sa fie identificate cu o eticheta bine atasata care sa contina cel putin urmatoarele informatii:

- numele si prenumele pacientului;
- numarul de identificare;
- data;
- ora (daca se cere monitorizarea unui tratament);
- identificarea persoanei care a recoltata proba.

Eticheta completata trebuie sa fie atasata la tub inainte de a pleca de langa pacient.

Daca se foloseste eticheta cod de bare, aceasta se va atasa pe tub conform reglementarilor institutiei.

p) Racirea probei biologice

Unele teste necesita ca probele sa fie racite, imediat dupa punctia venoasa, pentru a incetini procesele metabolice care pot modifica rezultatele (gastrina, amoniu, acid lactic, catecolamine, PTH).

q) Expedierea tuburilor cu probe de sange

Tuburile cu probele de sange, etichetate, se trimit in compartimentele laboratorului desemnat sa efectueze testele solicitate.

3. Transportul probelor biologice

Transferul probelor biologice la laborator difera, in ceea ce priveste durata, in functie de localizarea laboratorului in raport cu locul recoltarii. Exista situatii cand transportul probelor presupune utilizarea unor mijloace de transport (posta, masina). In aceste cazuri se va avea in vedere si se va observa producerea hemolizei la probele de sange. Se recomanda ca intre momentul recoltarii si centrifugarea probelor sa nu treaca mai mult de o ora. Pe masura ce acest timp se prelungeste, incep sa apara modificari ale

concentratiei unor analiti in sange. Daca sangele integral este depozitat la temperatura camerei, nivelul glicemiei scade cu 5% intr-o ora, scaderea fiind mai accentuata pe masura ce temperatura creste sau in caz de leucocitoza. Eliberarea potasiului din eritrocite este minima la temperatura camerei dar incepe sa creasca la 4°C si peste 30°C.

Recomandarea generala este de a se testa probele biologice in maxim 4 ore de la recoltare (4).

4. Depozitarea probelor biologice

Procedura de stocare a probelor biologice este guvernata de stabilitatea analitelor.

Cele mai importante cauze ale alterarii calitatii specimenului biologic sunt reprezentate de: metabolismul eritrocitelor (glucoza), evaporare, reactii chimice, descompunere microbiana, procese osmotice, efectele luminii, difuzia gazelor.

Transportul rapid si depozitarea de scurta durata a probelor biologice cresc credibilitatea in rezultatele furnizate de laborator.

Probele biologice se depoziteaza intotdeauna in recipiente inchise pentru a preveni evaporarea (acest proces poate avea loc chiar si in frigider). Recipientele cu sange se vor depozita in pozitie verticala, procesul de coagulare fiind in acest caz accelerat.

Se va evita:

- depozitarea sangelui integral si in niciun caz la frigider;
- alterarea procesului de glicoliza - utilizarea anticoagulantilor pe baza de fluorura (pentru determinarea glicemiei, pH, lactatului);
- expunerea la lumina - determinarea bilirubinei, porfirinelor, vitaminei C, CK, acid folic
- contactul cu aerul (4).

Cauze frecvente de aparitie a erorilor de laborator

Nerespectarea standardelor de pregatire a pacientilor, de recoltare, transport al probelor sau de depozitare va avea ca efect aparitia posibilelor erori:

- inscripționarea gresita a recipientelor;
- identificarea gresita a pacientilor;
- aplicarea necorespunzatoare a garoului;
- omogenizarea prea viguroasa a probelor recoltate in recipiente cu aditivi;
- recoltarea in recipiente gresite;
- nerespectarea ordinii de recoltare;

- recoltarea din vena situata deasupra locului de administrare a tratamentului perfuzabil in curs;
- folosirea pentru recoltare a dispozitivelor de acces venos fara pregatirea lor prealabila (4).

In ciuda respectarii procedurilor din faza preanalitica ramane totusi ca si cauza de aparitie a erorilor de laborator interferenta diferitilor compusi din plasma sau ser cu metoda de testare. Cel mai des incriminate sunt probele hemolizate, lipemice si icterice.

Proba hemolizata

Hemoliza este definita ca eliberarea componentelor intracelulare eritrocitare sau a altor celule sanguine in spatiul extracelular sanguine (ser, plasma). Hemoliza se poate produce in vivo sau in vitro. Hemoliza poate avea la baza mecanisme chimice, imunologice, mecanice sau fizice:

- imunologic – hemoliza dependenta de complement, in cazul transfuziilor;
- fizic – distructia hematiilor in mediu hipoton, presiune crescuta sau scazuta;
- mecanic – recoltare defectuoasa, valve cardiace, centrifugare necorespunzatoare;
- chimic – detergenti.

Hemoliza poate fi vizualizata dupa centrifugarea sangelui, ca fiind o coloratie roz pana la rosu intens a plasmii sau serului.

Hemoliza in vivo sau in vitro produce modificari ale rezultatelor unor analiti (cresteri sau scaderi). La baza acestor efecte stau o serie de mecanisme:

a) cresterea concentratiei constituentilor intracelulari in spatiul extracelular. Constituentii intracelulari cu concentratie de 10 ori mai mare decat in spatiul extracelular vor creste in plasma in cazul existentei hemolizei (ASAT, LDH, potasiu).

b) interferenta cu metoda analitica

Componentii intracelulari pot interveni direct sau indirect in metoda analitica. Adenilatkinaza eliberata din eritrocite poate duce la cresterea activitatii CK si CKMB, mai ales atunci cand in reactie se utilizeaza o cantitate necorespunzatoare de inhibitori de adenilatkinaza. In schimb, adenilatkinaza nu va influenta determinarea imunologica a CKMB. Activitatea pseudo-peroxidazica a hemoglobinei libere interfera in metoda Jendrassik-Grof de determinare a bilirubinei, prin inhibarea formarii compusului diazonic colorat. Proteazele eli-

berate din celulele sanguine reduc activitatea factorilor de coagulare, in timp ce formarea produsilor de degradare ai fibrinei este crescuta.

c) interferenta optica

Cel mai des, culoarea rosie a hemoglobinei determina cresterea absorbtiei de radiatie la anumite lungimi de unda sau modificarea blank-ului (4).

Proba lipemica

Lipemia este reprezentata de prezenta unui anumit grad de turbiditate a plasmii sau serului. Este determinata de prezenta unei concentratii crescute a lipoproteinelor si este vizibila cu ochiul liber. Pentru a detecta prezenta lipemiei este necesar sa se utilizeze containere de recoltare care sa nu distorsioneze continutul.

Cel mai frecvent, lipemia este determinata de cresterea concentratiei trigliceridelor in ser sau plasma. Cresterea concentratiei trigliceridelor poate fi consecinta ingestiei de alimente, prezentei unor tulburari ale metabolismului lipidic sau infuziei de lipide (alimentatie parenterala).

a) Interferenta in analizele spectrofotometrice

Lipemia interfera in determinarile spectrofotometrice prin absorbtia de radiatie si fenomene de dispersie a luminii (light scattering). Rezultatele obtinute pot fi atat crescute cat si scazute in functie de blanking-ul procedurii. O turbiditate mare poate chiar impiedeca obtinerea rezultatului, atunci cand linearitatea metodei este depasita.

b) Efectul depletiei de volum

Lipoproteinele determina o scadere aparenta a concentratiei analitilor prin reducerea volumului apei, astfel incat volumul ocupat de lipoproteine in ser sau plasma va fi inclus in calculul concentratiei analitului. In acest mod se explica concentratia scazuta a sodiului si potasiului in serul lipemic, atunci cand masuratorile se fac flamfotometric sau este utilizata metoda indirecta cu electrozi ion-selectivi, comparative cu metoda directa cu electrozi ion-selectivi.

c) Interferenta prin mecanisme fizico-chimice

Lipoproteinele din ser pot lega o serie de analiti, cum ar fi anticorpii, astfel incat acestia nu mai intra in reactia specifica. Si determinarile electroforetice si cromatografice sunt influentate de prezenta lipoproteinelor⁴.

Proba icterica

Bilirubina este prezenta in plasma sau ser sub forma libera sau legata de proteine (albumina). Bilirubina conjugata este prezenta sub forma de mono- si diglucuronat si este solubila in apa. Drept urmare, atunci cand este prezenta in cantitate crescuta in sange, va apare si in urina.

Mecanisme de interferenta ale bilirubinei:

a) Interferenta spectrala

Bilirubina prezinta o absorbtie crescuta la lungimi de unda de 340 nm si 500 nm. Metodele spectrofotometrice ce utilizeaza aceste lungimi de unda pot fi influentate de concentratiile creste de bilirubina. Reducerea absorbtiei ca rezultat al oxidarii bilirubinei in solutie alcalina este principala cauza a interferentei bilirubinei in metoda Jaffe fara deproteinizare prin care se determina creatinina.

b) Interferenta chimica

Bilirubina interfera in metodele bazate pe sistemul oxidaza/peroxidaza. Proportional cu concentratia sa, bilirubina reactioneaza cu H_2O_2 formata in sistemul de testare, determinand obtinerea unor rezultate fals scazute atunci cand sunt utilizate metode enzimaticice de determinare a glucozei, colesterolului, trigliceridelor, acidului uric si creatininei (4).

Concluzii

Rapiditatea cu care se vor obtine rezultate corecte din partea laboratorului clinic tin nu numai de dotarea cu aparatura performanta a acestuia ci si de o buna comunicare intre sectiile clinice si laborator precum si de existenta si respectarea unor proceduri clare, cunoscute de intreg personalul medical implicat. Nu este doar datoria asistentului medical sa cunoasca aceste proceduri, ci si a medicului care recomanda investigatiile, astfel incat acesta sa poata face o solicitare corecta a analizelor, sa poata verifica corectitudinea recoltarii si sa le poata interpreta in contextul clinic al fiecarui pacient.

BIBLIOGRAFIE

1. Plebani M, Carraro P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. Clin Chem,1997; 43:1348-51.
2. Romero A, Munoz M, Ramos JR, et al. Identification of preanalytical mistakes in the stat section of the clinical laboratory. Clinical Chemistry Et Laboratory Medicine 2005; 43(9):974-5.
3. Viroj Wiwanitkit. Types and frequency of preanalytical mistakes in the first Thai ISO 9002:1994 certified clinical laboratory, a 6 - month monitoring. BMC Clin Pathol 2001; 1: 5.
4. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Sample: from the pPatient to the laboratory. The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results, 3rd rev. Ed, Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, 2003.
5. NCCLS. Procedure of the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Approved Standard-4th ed. Wayne, PA: Document H3-A4, 1998.
6. NCCLS. Collection, transport and processing of blood specimens for coagulation testing and general performance of coagulation assays. Wayne, PA: Approved guideline, 3rd ed. 2000.