

Influence of pre-analytical errors on the reliability of laboratory tests results

Pietrzykowska E., Kleczkowski M., Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This article aims at the assessment of sensitivity of laboratory tests results to the pre-analytical errors. Here, we analyze the origin of pre-analytical mistakes. If the cause is known the problem can be avoided. Reliable results of laboratory tests are crucial for the proper diagnosis. Good laboratory routine helps to reduce the number of false results in everyday laboratory work.

Keywords: laboratory tests, pre-analytical errors.

W ostatnich latach obserwowany jest znaczny postęp w weterynaryjnej diagnostyce laboratoryjnej. Wykonywane badania – bardzo użyteczne w procesie rozpoznawania i różnicowania chorób, prognozowania ich przebiegu oraz kontrolowania procesu terapeutycznego – muszą jednak być wykonywane rzetelnie. Oznacza to zgodność z zasadami dobrej praktyki na wszystkich etapach realizacji badania, aby uzyskany wynik był wiarygodny, tzn. by podana wartość liczbową powiększona lub pomniejszona o przedział niepewności zawierała w sobie, z określonym prawdopodobieństwem, wartość rzeczywistą badanego parametru. Trzeba pamiętać, że około 20% wszystkich popełnianych błędów przyczynia się do narażenia pacjenta na dodatkowe badania, powodując niepotrzebny wzrost kosztów leczenia, a 6,3% błędów prowadzi do złej diagnozy, a co za tym idzie do zastosowania nieprawidłowego leczenia.

Statystycznie najczęściej nieprawidłowości (61,9–68,2%) powstaje w fazie przedanalizycznej badania, jako tzw. błędy lekarskie, co rodzi konieczność stałego uzupełniania wiedzy w zakresie doboru badań (znajomość profili metabolicznych), znajomości zmian składu jakościowo-ilościowego materiału biologicznego w różnych chorobach oraz umiejętności pobierania i zabezpieczania materiału biologicznego (1, 2, 3). Aby zmniejszyć ryzyko powstawania błędów przedlaboratoryjnych, należy przestrzegać kilku zasad, które znacząco podniosą szanse otrzymania wiarygodnego wyniku.

Przygotowanie pacjenta

Najczęściej błąd przedlaboratoryjny pojawia się już na etapie przygotowania pacjenta do pobrania materiału. Do większości badań biochemicznych krew od

Wpływ błędów przedlaboratoryjnych na wiarygodność wyników badań

Elwira Pietrzykowska, Mirosław Kleczkowski

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

pacjenta powinna być pobrana na czczo. Należy uprzedzić właściciela, że zwierzęciu nie wolno podawać pokarmów na 12 godzin przed planowanym pobraniem krwi, ale nie powinno się ograniczać wody. Pobieranie krwi na czczo zmniejsza ryzyko pojawienia się lipemii, która może istotnie podwyższyć wyniki większości parametrów profilu lipidowego, takich jak: triglicerydy, cholesterol LDL czy HDL oraz nieznacznie innych parametrów.

Nie należy także pobierać krwi do badań po podaniu niektórych leków, np. podanie dożylnie zwierzętom glukozy lub steroidów prowadzi do hiperglikemii, natomiast środki przeczyszczające indukują aktywność transferaz. Właściwości farmakologiczne wielu leków prowadzić mogą do interferencji podczas badań diagnostycznych. Przykładowo: glutation, kwas moczowy i kwas askorbinowy interferują z odczynnikami podczas oznaczania glukozy metodą oksydazową, przyczyniając się do uzyskiwania wyników fałszywie ujemnych. Niektóre zabiegi, jak np. palpacyjne badanie gruczołu krokowego, mogą przyczynić się do wzrostu aktywności kwaśnej fosfatazy. Stąd badań tego rodzaju nie należy wykonywać po wymienionym zabiegu.

Drugim ważnym elementem jest zminimalizowanie wysiłku fizycznego (ograniczenie długich spacerów, zabaw, treningów) przynajmniej na dobę przed planowanym pobraniem krwi. Wzmocniona aktywność fizyczna może bowiem powodować wzrost stężenia takich parametrów, jak: albuminy, kreatynina i kwas moczowy, a także prowadzić do obniżenia stężenia glukozy (4). Należy również zmniejszyć poziom stresu, na jaki narażone jest zwierzę, co może być trudne ze względu na fakt, że już sama wizyta w gabinecie jest bardzo często silnym bodźcem stresowym. Stres może przyczyniać się do podwyższenia stężenia glukozy we krwi, a także wzrostu stężenia białka całkowitego i katecholamin.

Ponadto lekarz musi pamiętać o zebraniu dokładnych informacji o wszystkich lekach, które przyjmuje pacjent, gdyż wiele z nich powoduje zmiany w metabolizmie wątrobowym i wzrost aktywności jednych z najczęściej oznaczanych

parametrów, takich jak aminotransferaza asparaginianowa (AST), aminotransferaza alaninowa (ALT) i fosfataza zasadowa (AP). Wiedza ta pozwoli lepiej zinterpretować wyniki otrzymanych badań i uwzględnić wszelkie zmiany wielkości stężenia parametrów, które mogą nie być skorelowane z chorobą pacjenta, a wynikać z lekoterapii, której poddany jest pacjent.

Pobranie materiału

Do większości badań dodatkowych (np. hematologiczne, biochemiczne, hormonalne) wykorzystuje się krew żylną, pobieraną zazwyczaj z żyły odpromieniowej. Tylko do niektórych badań, takich jak np. gazometria, należy pobierać krew tętniczą, co jest nieco bardziej skomplikowanym zabiegiem. Podczas pobierania krwi należy pamiętać o tym, aby opaskę uciskową przytrzymać jak najkrócej (poniżej minuty), a także zwolnić ją zaraz po wkłuciu do żyły. Zbyt długi ucisk powoduje przemieszczenie wody i substancji niskocząsteczkowych do przestrzeni pozanaczyniowej, co skutkuje miejscowym zagęszczeniem krwi (4). Może dodatkowo dojść do hemolizy, która podwyższa wyniki takich oznaczeń biochemicznych, jak: ALT, AST, potas czy żelazo. Istnieje również wiele innych czynników mogących spowodować hemolizę próbek. Do najczęstszych należy pobieranie krwi zbyt cienką igłą, zbyt intensywne mieszanie krwi w próbówce czy przechowywanie pobranego materiału w zbyt wysokiej temperaturze.

Bardzo częstym problemem jest dobór odpowiedniej próbówki (tab. 1). Istnieje wiele antykoagulantów stosowanych w diagnostyce laboratoryjnej, każdy z nich jednak na ogół używany jest do innych badań. Należy więc do konkretnego oznaczenia dostosować próbówkę z odpowiednim antykoagulantem. Standardowo do badania morfologicznego wykorzystuje się próbówkę zawierającą EDTA-K₂. Krew pobrana na ten antykoagulant cechuje się stabilnością parametrów hematologicznych, ponadto jego obecność nie wpływa na barwienie preparatów metodą May-Grunwalda i Giemsa (5). Z osocza krwi pobranej na wersenian

Tabela 1. Wybrane antykoagulanty stosowane w diagnostyce laboratoryjnej oraz ich zastosowanie

Nazwa antykoagulantu	Mechanizm działania	Zastosowanie
Wersenian dipotasowy (EDTA-K ₂ – w formie płynnej – od 4 do 10%; EDTA-K ₃ w formie napylonej)	Wiązanie jonów Ca ²⁺	Badania hematologiczne, odczyn Biernackiego, oznaczanie amoniaku
Cytrynian sodu (3,2%)	Wiązanie jonów Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Zn ²⁺ ; hamuje aktywność fagocytów i wytwarzanie enzymów litycznych aktywujących kaskadę krzepnięcia	Oznaczenie parametrów krzepnięcia (fibrinogen, czas kaolinowo-kefalinowy, czas protrombinowy, czas trombinowy)
Cytrynian sodu (3,8%)	Wiązanie jonów Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Zn ²⁺ ; hamuje aktywność fagocytów i wytwarzanie enzymów litycznych aktywujących kaskadę krzepnięcia	Odczyn Biernackiego
Fluorek sodu (3,8%)	Inaktywacja enzymów glikolizy	Oznaczenie stężenia glukozy i mleczanów
Jodoocetan litu (3,8%)	Inaktywacja enzymów glikolizy	Oznaczenie stężenia glukozy i mleczanów
Heparyna (w formie płynnej, powyżej 18 j.m.)	Kofaktor antytrombiny, hamuje kaskadę krzepnięcia	Oznaczenie parametrów gazometrii, stężenia hormonów i wapnia zjonizowanego

dipotasowy można oznaczyć również stężenie niektórych parametrów biochemicznych, takie jak: amoniak, frakcje lipidowe i hormony tarczycy.

Do oznaczenia parametrów układu krzepnięcia wykorzystuje się próbówki zawierające 3,2-proc. cytrynian sodu. Niezwykle ważne jest, aby do badania pobrano odpowiednią ilość materiału, wskazaną na etykiecie próbówki, tak aby uzyskać rozcieńczenie 1:10. W przypadku zbyt małej lub zbyt dużej ilości krwi dochodzi do nadmiernego rozcieńczenia lub zagęszczenia próbki, co może rzutować na wyniki poszczególnych parametrów krzepnięcia. 3,2% cytrynian sodu wykorzystuje się również do pomiaru liczby płytek krwi w przypadku, gdy mamy do czynienia z pseudotrombocytopenią, a więc rzekomą małopłytkowością wynikającą z powstawania agregatów płytkowych tworzących się pod wpływem kontaktu z EDTA-K₂ (7, 8). Agregaty płytkowe nie są zliczane przez analizator hematologiczny do płytek, wskutek czego dochodzi do zaniżenia rzeczywistej ich liczby we krwi. W takiej sytuacji, aby ocenić realną liczbę płytek, wykorzystuje się cytrynian sodu, który nie aktywuje przeciwciał znajdujących się na płytkach i nie powoduje ich zlepienia.

Ten sam antykoagulant w rozcieńczeniu 3,8% stosuje się zamiennie z EDTA-K₂ do oznaczenia odczynu Biernackiego, czyli szybkości opadania krwinek. Rzadkie zastosowanie w diagnostyce laboratoryjnej mają próbówki zawierające fluorek sodu lub jodoocetan litu z EDTA-K₂. Wykorzystuje się je do oznaczenia stężenia glukozy i mleczanów we krwi, ze względu na ich zdolność do hamowania enzymów glikolizy. Są inhibitorami enolazy, przez co wynik stężenia glukozy jest bardziej adekwatny do faktycznego stanu klinicznego pacjenta. Należy przy tym pamiętać,

że hamujące działanie nie jest natychmiastowe i w ciągu pierwszych czterech godzin dochodzi do obniżania stężenia glukozy we krwi tak samo jak w przypadku pobrania materiału do próbówki biochemicznej, czyli od 5 do 7% na godzinę (6). Najnowsze badania pokazują, że zastosowanie dodatkowo buforu cytrynianowego znacząco obniża proces glikolizy już w pierwszej godzinie od pobrania materiału.

Transport materiału

Ostatnim etapem, w którym może dojść do powstania błędu przedlaboratoryjnego, jest przygotowanie materiału do wysyłki do laboratorium oraz sam transport. Przed wysłaniem próbek należy prawidłowo opisać (oznakować) zarówno próbówki, jak i skierowanie, uwzględniając przede wszystkim gatunek zwierzęcia. Należy również zadbać o zabezpieczenie materiału przed zniszczeniem, a w przypadku badań, które muszą być wykonane w niedługim czasie od pobrania (np. badania układu krzepnięcia), postarać się, aby materiał szybko trafił do laboratorium (zgłoszenie do laboratorium odbioru materiału na cito). W przypadku długiego czasu oczekiwania na odbiór materiału zaleca się odwirowanie surowicy i oddzielenie jej od elementów morfotycznych poprzez przelanie do czystej próbówki, a następnie przechowywanie w temp. 4°C, a także unikanie ekspozycji na światło.

Znajomość zasad odpowiedniego przygotowania pacjenta oraz pobierania materiału może w znacznym stopniu ograniczyć zakres i poziom błędów przedlaboratoryjnych, a co za tym idzie pozwoli otrzymać rzetelne i wiarygodne wyniki badań dodatkowych. Informacje na temat możliwych błędów przedlaboratoryjnych można znaleźć w podstawowych

dokumentach, na których opiera się akredytacja metod badawczych. Są to między innymi: PN-EN ISO/IEC 17025 pt. „Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących”, podręcznik pobierania próbek do laboratoryjnych badań diagnostycznych chorób zakaźnych zwierząt i Instrukcja Głównego Lekarza Weterynarii nr GIW z.401/Bru-28/2006 z 24 lipca 2006 r. w sprawie postępowania przy prowadzeniu badań kontrolnych występowania i przy zwalczaniu brucelozy (9, 10). Ponadto ważne informacje zawierają także księgi jakości i procedury ogólne laboratoriów diagnostycznych.

Piśmiennictwo

- Carraro P, Plebani M.: Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. *Clin. Chem.* 2007, **53**, 1338–1342.
- Plebani M., Carraro P.: Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. *Clin. Chem.* 1997, **43**, 1348–1351.
- Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, Rubboli F.: Errors in laboratory medicine. *Clin. Chem.* 2002, **48**, 691–698.
- Jaksz-Recmanik E., Bobiński R.: Błędy przedlaboratoryjne w praktyce pielęgniarskiej. *Probl. Pielęg.* 2011, **19**, 386–390.
- Dembińska-Kieć A., Naskalski J.: Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. 2013, 35–36.
- Solnica B.: Przedanalizyczne i analityczne aspekty stosowanych w diagnostyce cukrzycy badań przemian glukozy. *Diagnosta Lab.* 2012, **27**, 5–7.
- Stokol T., Hollis N.: A comparison of platelet parameters in EDTA – and citrate-anticoagulated blood in dogs. *Vet. Clin. Path.* 2007, **36**, 148–154.
- Wills T.B., Wardrop K. J.: Pseudothrombocytopenia secondary to the effects of EDTA in a dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2008, **44**, 95–97.
- Instrukcja Głównego Lekarza Weterynarii nr GIW z.401/Bru-28/2006 z 24 lipca 2006 r. w sprawie postępowania przy prowadzeniu badań kontrolnych występowania i przy zwalczaniu brucelozy. Inspekcja Weterynaryjna, lipiec 2006, 1–21.
- PN-EN ISO/IEC 17025 Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących. Grudzień 2005. Copyright by PKN, Warszawa 2005, 1–65.

Lek. wet. Elwira Pietrzykowska,
e-mail: elwira_pietrzykowska@gmail.com