

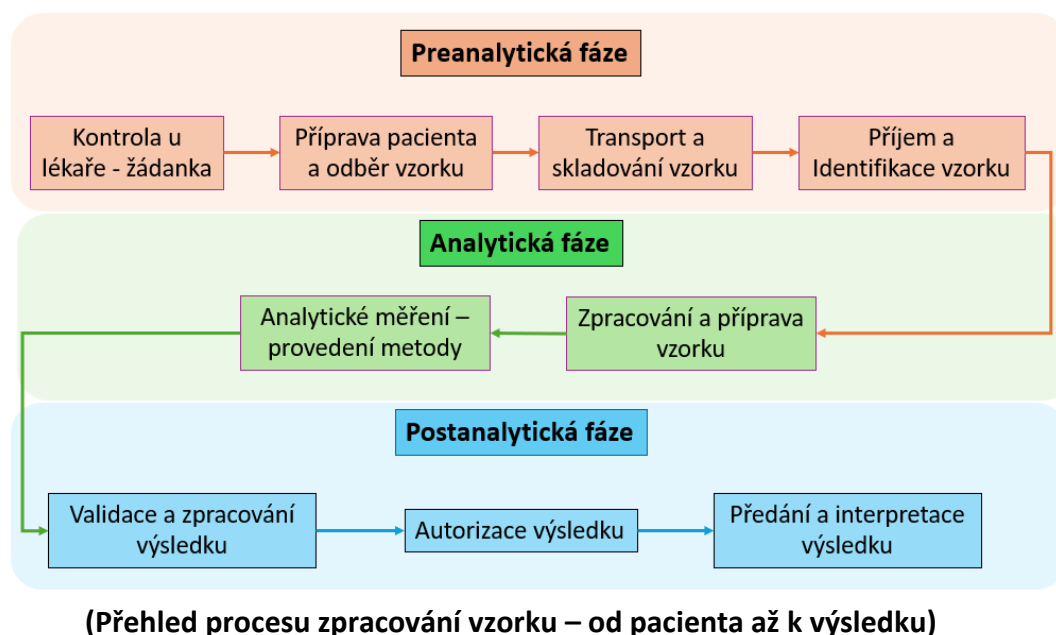
Ovlivnění výsledků laboratorních vyšetření

Představení kapitoly

Laboratorní vyšetření je nedílnou součástí moderní medicíny. K posouzení zdravotního stavu vyšetřované osoby je zapotřebí co nejvíce informací, které lze získat z různých zdrojů: z anamnézy, z fyzikálního vyšetření, z laboratorního vyšetření, z přístrojového a funkčního vyšetření. Přibližně 60–70 % klinických rozhodnutí je činěno na základě laboratorních dat. Aby tato rozhodnutí byla správná, je naprosto nezbytné, aby laboratorní proces byl přesný, standardizovaný a co nejméně náchylný k chybám. Celý laboratorní proces lze rozdělit do tří základních fází: preanalytická, analytická a postanalytická. Každá z nich má svá specifika a možná rizika vzniku chyb, která mohou významně ovlivnit výsledek vyšetření i jeho interpretaci.

Obsah

1	Preanalytická fáze laboratorního vyšetření	2
1.1	Faktory ovlivňující výsledky laboratorních vyšetření	2
1.1.1	Biologické faktory pacienta.....	2
1.1.2	Klíčové kroky při odběru vzorku.....	3
1.1.3	Transport a skladování vzorku.....	3
2	Analytická fáze a analytické vlastnosti laboratorních metod	4
2.1	Co může ovlivnit výsledek v analytické fázi?	4
2.2	Jaké chyby mohou vzniknout?.....	4
2.2.1	Náhodné chyby	4
2.2.2	Systematické chyby	5
2.3	Jak chyby popsat a vyhodnotit?.....	5
2.3.1	Přesnost (precision)	5
2.3.2	Pravdivost (trueness).....	6
2.3.3	Správnost (accuracy)	6
2.3.4	Další analytické charakteristiky	7
2.4	Jak lze chybám předcházet?	8
3	Postanalytická fáze laboratorního procesu.....	9
3.1	Klíčové kroky postanalytické fáze	9
3.2	Příklady chyb v postanalytické fázi.....	9



1 Preanalytická fáze laboratorního vyšetření

Preanalytická fáze je nejdůležitější a zároveň nejzranitelnější část laboratorního procesu. Začíná už v okamžiku indikace laboratorního testu a končí těsně před samotnou analýzou vzorku ve specializované laboratoři. Podle studií vzniká až 70 % všech laboratorních chyb právě v této fázi.

1.1 Faktory ovlivňující výsledky laboratorních vyšetření

Kvalita laboratorního výsledku nevychází jen z přesnosti samotné analytické metody, ale už od **přípravy a stavu pacienta**, přes **způsob odběru vzorku**, až po jeho **transport a uchování**. Pokud v kterékoliv z těchto fází dojde k chybě, výsledky mohou být zkreslené nebo úplně neplatné.

1.1.1 Biologické faktory pacienta

Než vůbec dojde k odběru, hraje roli **stav pacienta**. Na laboratorní hodnoty působí celá řada **neovlivnitelných faktorů** – například pohlaví (muži mají fyziologicky vyšší hladinu hemoglobinu), věk (novorozenci, děti i senioři se odlišují v řadě parametrů), etnicita, biologické rytmy (např. kortizol se mění během dne), těhotenství nebo přítomnost jiného onemocnění. Vliv má i biologický poločas jednotlivých analytů, tedy rychlost, s jakou se látky z těla odbourávají.

Kromě toho existují i **faktory ovlivnitelné** – chování pacienta před odběrem. Patří sem fyzická aktivita (krátce po zátěži stoupá laktát, CK (kreatinkinasa) nebo AST (aspartátaminotransferáza), psychický stres (zvyšuje hladiny stresových hormonů a mění glykemii či počet bílých krvinek), příjem potravy (ovlivňuje glukózu a lipidy), alkohol, kouření i užívané léky.

Proto je zásadní pacienta **před vyšetřením poučit** (např. přijít nalačno, vyhnout se alkoholu, intenzivnímu cvičení či kouření). Jen tak lze získat hodnoty, které skutečně odpovídají jeho zdravotnímu stavu.



Otázka: Jak byste postupovali, kdybyste byli na odběrech krve a uvědomili si, že jste si byli den předem zacvičit a dali si vydatnou večeři?

1.1.2 Klíčové kroky při odběru vzorku

Jakmile je pacient připraven, přechází se k samotnému odběru. Důležité je zvolit správný **typ biologického materiálu** (plná krev, plazma, sérum, moč, mozkomíšní mok apod.) a správně načasovat odběr (např. ráno nalačno). Na výsledky má vliv i **poloha pacienta** – vleže a ve stoje se liší distribuce tekutin.

Dalším krokem je volba **odběrové zkumavky**

(barevné odlišení zkumavek se může lišit mezi výrobci, zde uvedené od výrobce Sarstedt):

- červená (EDTA) – hematologie (nesrážlivá krev),
- hnědá (separační gel) – biochemie (sérum),
- zelená (citrát sodný) – koagulace,
- žlutá (fluorid sodný) – glukóza,
- fialová (citrát sodný) – sedimentace.

Samotný odběr ovlivňuje i **technika**: příliš dlouhé stažení paže turniketem (> 1 minuta) vede k hemokoncentraci a falešným výsledkům, nesprávná dezinfekce může vzorek kontaminovat.

Popis odběrové zkumavky Chemická aditiva	Uzávěr	Barva uzávěru	Použití
Srážlivá krev S aktivátorem srážení a gelem		Hnědá	Příprava séra
Nesrážlivá krev EDTA K3EDTA		Červená	Výšetření krevního obrazu, krevní skupiny, glykovaného hemoglobinu, sedimentace erytrocytů
Nesrážlivá krev citrát sodný (1:9) Citrát sodný 3,2 %		Zelená	Koagulační vyšetření
Nesrážlivá krev citrát sodný (1:4) Citrát sodný 3,2 %		Fialová	Sedimentace erytrocytů (manuálně)
Nesrážlivá krev EDTA a fluorid sodný		Žlutá	Výšetření glykémie, laktátu a homocysteinu
Nesrážlivá krev heparin Heparinát lithný		Oranžová	Příprava plazmy s heparinem

(Zdroj: <http://ukbd.fnhk.cz/odberovy-system.html#01>)

1.1.3 Transport a skladování vzorku

Po odběru následuje transport a uchování. Zde je cílem **minimalizovat čas do analýzy** a zachovat stabilitu vzorku.

- **Plná krev:** při stání se mění složení (únik draslíku z erytrocytů, spotřeba glukózy a kyslíku).
- **Sérum:** je stabilnější, krátkodobě skladovatelné v lednici, pro delší dobu se zmrazuje.
- **Moč:** bez konzervace rychle podléhá bakteriálním změnám → nutná konzervace nebo chlazení.
- **Citlivé látky (např. bilirubin):** musí se chránit před světlem.



Poznámka: *Plná krev* je krev obsahující jak plazmu, tak krevní elementy (erytrocyty, leukocyty, trombocyty). Používá se hlavně v hematologii a koagulačních vyšetřeních a musí být odebrána do zkumavky s antikoagulantem, aby se nesrazila.

Sérum je tekutá složka krve získaná po srážení a centrifugaci, neobsahuje fibrinogen a používá se především v biochemii a sérologii. Oproti plné krvi je stabilnější a snadněji se skladuje.



Otázka: *Které laboratorní parametry je nutné odebírat výhradně ráno a proč? Jaké změny nastávají při delším stání plné krve bez stabilizace?*

2 Analytická fáze a analytické vlastnosti laboratorních metod

Analytická fáze představuje klíčovou část laboratorního procesu. V této chvíli už je vzorek pacienta odebraný, připravený a přichází na řadu vlastní analýza biologického materiálu pomocí přístrojů, reagensií a metod. Moderní laboratoře využívají automatizované analyzátory a sofistikované kontrolní systémy, proto je analytická fáze považována za nejlépe sledovanou a nejspolehlivější část celého procesu. Přesto ani zde nelze chyby zcela vyloučit.

2.1 Co může ovlivnit výsledek v analytické fázi?

- **Technický stav přístrojů:** analyzátory potřebují pravidelnou kalibraci a údržbu. Nečisté optické cesty, poruchy pipetovací jednotky nebo zanesené sondy mohou vést k nesprávným výsledkům.
- **Kvalita činidel:** reagensie mají omezenou životnost a citlivost na teplotu. Nesprávně skladované nebo prošlé činidlo může změnit intenzitu barevné reakce a vést k falešným hodnotám.
- **Automatizace vs. manuální analýza:** automatizované systémy snižují riziko lidské chyby, ale pokud dojde k chybě softwaru, mohou být nesprávně zpracovány desítky vzorků. Naopak u manuálních postupů hraje roli zkušenost a přesnost pracovníka.
- **Standardní operační postupy (SOP):** pokud není přesně dodržen předepsaný protokol (např. inkubační časy, objemy pipetovaných vzorků), výsledky ztrácejí reprodukovatelnost.



Poznámka: Chybovost v analytické fázi je nižší než v preanalytické, protože moderní laboratoře využívají vysoký stupeň automatizace a kontrolních mechanismů. Přesto mohou mít chyby v této fázi závažné důsledky – vést k nesprávným výsledkům a následně k falešně negativním či falešně pozitivním nálezům, což může výrazně ovlivnit diagnostiku a léčbu pacienta.

2.2 Jaké chyby mohou vzniknout?

Při reálném měření dochází ke vzniku **náhodných** i **systematických chyb**. Hodnota získaná měřením není přesně rovna měřené veličině, ale je vždy získána s jistou chybou neboli odchylkou.

2.2.1 Náhodné chyby

Vznikají vlivem drobných, obtížně kontrolovatelných faktorů (teplotní výkyvy, vibrace přístroje, mikroskopické rozdíly v pipetování). Výsledky pak „kolísají“ kolem skutečné hodnoty.

Náhodné chyby se řídí zákony pravděpodobnosti. Jedná se o chyby, které při měření nemůžeme kontrolovat ani definovat. Opakujeme-li měření nějaké veličiny za stejných podmínek, zjistíme, že výsledné hodnoty jednotlivých opakovaných měření téže veličiny se navzájem poněkud liší.

2.2.2 Systematické chyby

Systematické chyby vedou k tomu, že jsou všechny výsledky posunuty jedním směrem – buď jsou systematicky vyšší, nebo nižší než skutečná hodnota. Typickým příkladem je **špatná kalibrace přístroje**: pokud analyzátor ukazuje hodnoty vždy o 10 % nižší, než je realita, budou všechny výsledky pacientů zkreslené. Tyto chyby mohou mít stálou hodnotu, nebo se mění podle určitých zákonitostí (například v závislosti na teplotě). Nebezpečné je, že **opakované měření téže vzorku chybu neodhalí** – pokaždé dostaneme podobný výsledek, který je ale stejně nesprávný. K jejich zjištění je potřeba měnit podmínky měření a zejména používat **kontrolní vzorky se známými hodnotami**.



Poznámka: Pokud je například kalibrace posunuta, může být zdravý pacient označen jako hypoglykemický, nebo naopak diabetik vypadat jako „kompenzovaný“.

2.3 Jak chyby popsat a vyhodnotit?

Aby laboratoř mohla kvalitu svých metod objektivně posoudit, používá několik základních parametrů:

2.3.1 Přesnost (precision)

Přesnost vyjadřuje, jak blízko jsou si výsledky při opakovaném měření stejného vzorku. Pokud například změříme koncentraci glukózy v jednom vzorku pětkrát po sobě a hodnoty se liší jen minimálně, metoda je považována za přesnou. Odchylky od ideální shody vznikají zejména v důsledku **náhodných chyb** – může jít o drobné rozdíly v pipetování, malé kolísání teploty nebo nepatrné výkyvy v nastavení přístroje.

Přesnost lze hodnotit dvěma způsoby:

- **Opakovatelnost (repeatability):** výsledky jsou shodné, pokud se měří za stejných podmínek (stejný přístroj, stejný analytik, stejný den).
- **Reprodukovatelnost (reproducibility):** výsledky zůstávají konzistentní i tehdy, když se mění podmínky měření (jiný den, jiný analytik, jiný přístroj).

Aby se přesnost dala číselně vyjádřit, používají se statistické ukazatele:

- **Směrodatná odchylka (s):** vyjadřuje, jak moc se výsledky rozptylují kolem průměru. Čím je menší, tím jsou výsledky soustředěnější.
- **Variační koeficient ($VC = s/\bar{x} \times 100 \%$):** udává relativní míru nepřesnosti v procentech a umožňuje porovnávat přesnost různých metod nebo laboratoří.



Poznámka: Pokud dvě různé laboratoře stanoví u stejného pacienta téměř stejnou hodnotu cholesterolu, znamená to, že metoda má dobrou reprodukovatelnost.

2.3.2 Pravdivost (trueness)

Pravdivost vyjadřuje, **nakolik se naměřený výsledek blíží skutečné (referenční) hodnotě**. Pokud tedy metoda opakovaně ukazuje hodnoty, které odpovídají realitě, můžeme říct, že má dobrou pravdivost.

Hodnotí se pomocí **referenčních nebo kontrolních vzorků**, u kterých známe skutečnou koncentraci analytu. Pokud se naměřené hodnoty od těchto známých hodnot odchylují, svědčí to o **systematické chybě**. Ta posouvá všechny výsledky stejným směrem – například vadná kalibrace přístroje může způsobit, že všechny výsledky glykémie budou o 0,5 mmol/l nižší, než je skutečnost.

Matematické vyjádření:

- **Absolutní chyba (bias):** rozdíl mezi naměřenou hodnotou a skutečnou hodnotou.

$$\text{Bias} = x_{\text{měřený}} - x_{\text{skutečný}}$$

- **Relativní chyba:** odchylka vyjádřená v procentech.

$$\text{Relativní chyba} = \frac{\text{Bias}}{x_{\text{skutečný}}} \times 100\%$$



Otázka: Pokud je skutečná hodnota cholesterolu 5,0 mmol/l a metoda systematicky ukazuje 4,5 mmol/l. Jaký bude bias a relativní chyba?

2.3.3 Správnost (accuracy)

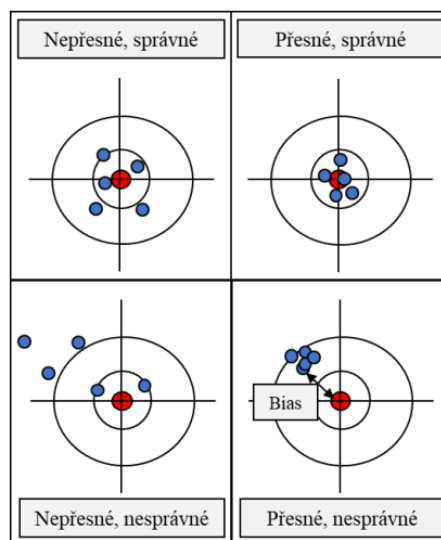
Správnost je komplexní parametr, který vyjadřuje **celkovou kvalitu metody**. Zohledňuje jak **přesnost** (shodu výsledků mezi sebou), tak **pravdivost** (blízkost skutečné hodnotě).

- Pokud je metoda **přesná, ale nepravdivá**, výsledky jsou sice konzistentní, ale systematicky chybné. Například glukometr může vždy ukazovat hodnoty vyšší o 10 %. Všechny výsledky budou blízko sebe, ale mimo realitu.
- Pokud je metoda **pravdivá, ale nepřesná**, průměr výsledků odpovídá skutečnosti, ale jednotlivá měření se rozptylují. To znamená, že průměrná hodnota je správná, ale na jednotlivé výsledky se spolehnout nelze.

- **Optimální metoda** je taková, která je současně přesná i pravdivá – výsledky jsou stabilní a zároveň odpovídají realitě.

Vizuální přirovnání (terč s výstřely)

- **Těsně u sebe, ale mimo střed** → přesné, ale nepravdivé.
- **Rozptýlené, kolem středu** → pravdivé, ale nepřesné.
- **Těsně u sebe ve středu** → současně přesné a pravdivé → tedy správné.



Otázka: Jak byste charakterizovali následující výsledky?

1) Laboratoř měří hladinu sodíku a výsledky jsou pokaždé téměř stejné, ale všechny o 5 mmol/l nižší, metoda je ...? 2) Jiná metoda ukazuje hodnoty rozptýlené mezi 130–150 mmol/l, ale průměrně odpovídá skutečné hodnotě 140 mmol/l, pak je metoda...?

2.3.4 Další analytické charakteristiky

- **Analytická citlivost (sensitivity)** – schopnost metody detekovat velmi nízké koncentrace analytu.
- **Analytická specifita (specificity)** – schopnost metody stanovit pouze sledovaný analyt, bez interferencí jiných látek.
- **Limit detekce (LOD) a limit kvantifikace (LOQ)** – nejnížší koncentrace, kterou metoda dokáže spolehlivě odlišit od nuly (LOD) a přesně kvantifikovat (LOQ).
- **Robustnost** – schopnost metody odolávat drobným změnám podmínek (teplota, pH, obsluha).

2.4 Jak lze chybám předcházet?

V analytické fázi se nelze spoléhat jen na to, že „přístroj funguje“. K zajištění správných výsledků existuje celý systém opatření:

Kalibrace a údržba přístrojů

Přístroje musí být pravidelně kontrolovány a seřizovány – tzv. kalibrace. Provádí se jak interně (pracovníci laboratoře podle zadaných postupů), tak externě (specializovanou firmou či akreditovaným servisem). Bez kalibrace může analyzátor systematicky ukazovat chybné hodnoty.

Kvalita a stabilita činidel

Chemické reagentie mají omezenou životnost a musí být skladovány při správné teplotě, vlhkosti či ochraně před světlem. Například bilirubin je velmi citlivý na světlo – pokud by činidla nebyla správně uchovávána, výsledky by byly falešně nízké. Používání prošlých nebo kontaminovaných reagentií je jednou z častých příčin nesprávných výsledků.

Validace metod

Každá nová metoda musí být před zavedením do rutinní praxe ověřena – laboratoř si musí být jistá, že metoda měří přesně to, co měřit má, že odliší správně cílový analyt od jiných látek, a že drobné změny podmínek (např. teplota v místnosti) výsledky zásadně neovlivní. Bez validace by hrozilo, že budeme mít klinicky nepoužitelné výsledky.

Standardní operační postupy (SOP)

SOP jsou podrobné písemné instrukce, které přesně určují, jak má pracovník postupovat při každém kroku analýzy – od přípravy vzorku až po vyhodnocení výsledku. Díky tomu je zajištěno, že i když vzorek zpracovává jiný pracovník nebo laboratoř, postup je stále stejný. To je zásadní pro reprodukovatelnost a srovnatelnost výsledků.

Interní a externí kontrola kvality

Každá laboratoř denně používá tzv. kontrolní vzorky se známou koncentrací analytu. Pokud výsledky kontrol vybočí z předepsaného rozmezí, je jasné, že nastal problém (např. vadná reagentie nebo porucha přístroje). Kromě toho se laboratoře účastní externích kontrol kvality – mezilaboratorních porovnání, kde dostanou identické vzorky a výsledky se mezi laboratořemi srovnávají. Jen tak lze zajistit, že výsledky z různých pracovišť budou vzájemně srovnatelné.

3 Postanalytická fáze laboratorního procesu

Postanalytická fáze navazuje na samotnou analýzu vzorku a představuje poslední krok laboratorního procesu. Zahrnuje zpracování, kontrolu, validaci a předání výsledků. Ačkoliv se často považuje za méně „technickou“ část, je naprosto zásadní – špatně validovaný nebo nesprávně předaný výsledek může mít pro pacienta stejné následky jako chyba při odběru či analýze.

3.1 Klíčové kroky postanalytické fáze

Validace výsledků

Biochemik nebo jiný odborný pracovník posuzuje, zda výsledek dává smysl. Kontroluje, jestli je v souladu s předchozími výsledky pacienta, s ostatními laboratorními parametry, a především s klinickým stavem. V této fázi se mohou zachytit nepravděpodobné hodnoty způsobené chybou v odběru nebo analýze.

Autorizace výsledků

Finální potvrzení odborníkem (klinický biochemik, hematolog aj.), že výsledky jsou správné a mohou být oficiálně předány. Autorizace je právní i odbornou zodpovědností – stvrzuje, že laboratoř garantuje kvalitu vyšetření.

Předání výsledků do nemocničního informačního systému (NIS)

Výsledky se elektronicky propisují do nemocniční databáze. Zde je důležité, aby přenos byl bezpečný a bez chyb – nesprávně spárovaný výsledek (např. přiřazený k jinému pacientovi) by měl fatální důsledky.

Interpretace výsledků klinickým lékařem

Lékař je tím, kdo výsledek zasadí do kontextu konkrétního pacienta. Laboratoř poskytuje čísla a odborný komentář, ale teprve klinik rozhoduje, zda hodnota znamená akutní ohrožení, nebo jen odchylku bez klinického významu.

3.2 Příklady chyb v postanalytické fázi

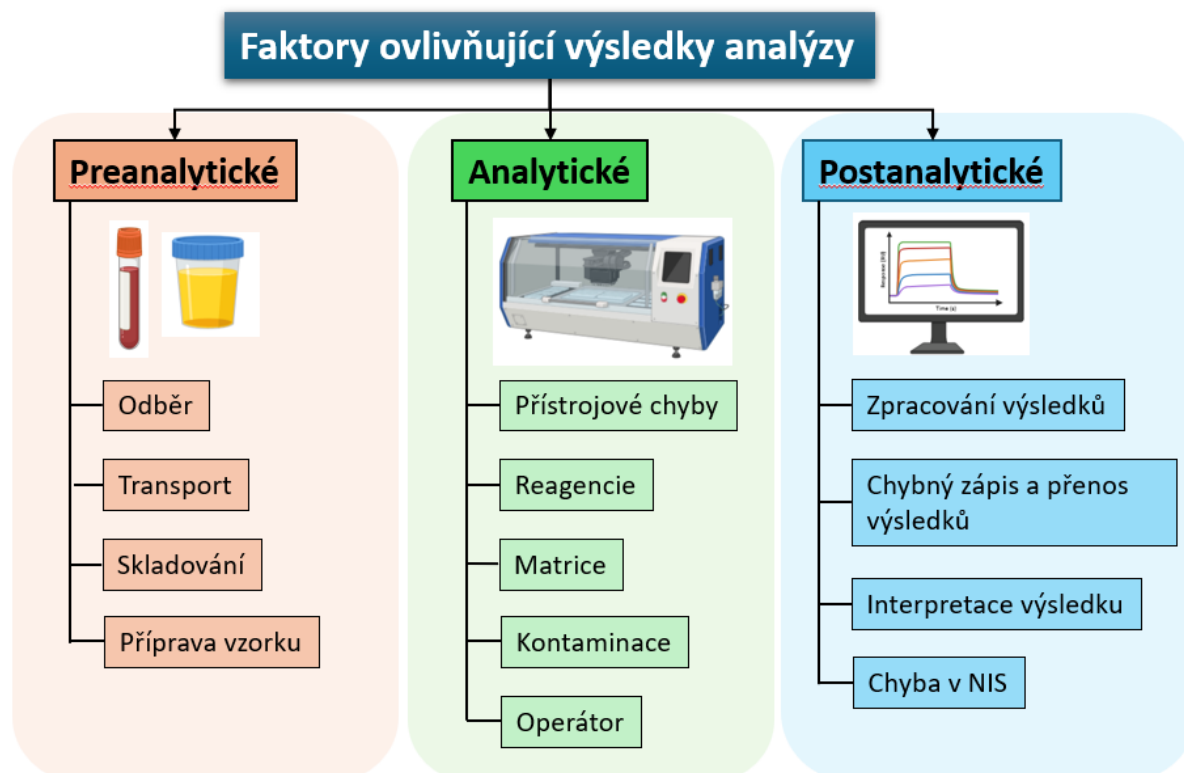
- **Validace bez souvislostí:** Biochemik validuje výsledek troponinu, aniž by zohlednil, že odběr byl proveden do nesprávné zkumavky. Výsledek vyjde falešně negativní → lékař oddálí léčbu akutního infarktu myokardu.
- **Chyba při autorizaci:** Přehlédnutí extrémní hodnoty, která neodpovídá biologickým možnostem (např. glykémie 50 mmol/l u pacienta bez příznaků).
- **Chybný přenos do NIS:** Záměna pacientů, kdy se výsledek zobrazí u jiného nemocného.
- **Nesprávná interpretace:** Lékař nebere v potaz, že vzorek mohl být hemolytický → falešně vysoký draslík → pacientovi je chybně podána léčba hyperkalémie.



Otázka: Která fáze podle vás vyžaduje největší míru spolupráce mezi laboratoří a klinickým lékařem? Kam byste zařadili záměnu vzorku pacienta a kam přiřazení špatného výsledku k pacientovi? Jedná se o závažnou chybu? Jaké mohou mít důsledky?

Shrnutí

Laboratorní proces se skládá ze tří základních fází – preanalytické, analytické a postanalytické. Nejvíce chyb vzniká v preanalytické fázi (až 70 %), proto je klíčová správná indikace, příprava pacienta, odběr a transport vzorku. Analytická fáze je dnes díky automatizaci stabilní, ale stále vyžaduje pečlivou kalibraci a kvalitní reagentie. Postanalytická fáze zahrnuje validaci a autorizaci výsledků, jejich správný přenos a interpretaci v klinickém kontextu.



Kontrolní otázky

1. V které fázi laboratorního procesu vzniká nejvíce chyb a proč?
2. Jaký je rozdíl mezi validací a autorizací výsledku?
3. Jak se projeví hemolýza na výsledku draslíku?
4. Které laboratorní parametry je nutné odebírat ráno a nalačno?
5. Jaký je význam SOP (standardních operačních postupů) v laboratoři?
6. Jaký laboratorní parametr se změní, pokud je odběr proveden ihned po fyzické aktivitě?