

## PREANALITIČKA FAZA KLINIČKO-DIJAGNOSTIČKOG PROCESA

Marijana Dajak

Institut za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija i Crna Gora

*Kratak sadržaj:* Preanalitička faza obuhvata: pripremu pacijenta za skupljanje uzorka, sakupljanje uzorka i tretman uzorka pre otpočinjanja analize. Na nivo analita mogu uticati sledeći preanalitički faktori: pol, starost, rasa, trudnoća, ishrana, fizička aktivnost, telesna težina, kofein, alkohol, pušenje, oralni kontraceptivi, lekovi, klima, bioritmovi, položaj tela, dužina venske kompresije, stres, hemoliza, lipemija, egzogena kontaminacija i dr. Poznavanje i kontrolisanje ovih preanalitičkih uticaja je preduslov da laboratorija obezbedi visok kvalitet rezultata. Potpuna automatizacija kliničko-laboratorijskog procesa verovatno će u budućnosti poboljšati kvalitet i reproducibilnost analiziranja, skratiti vreme dobijanja laboratorijskog rezultata, smanjiti cenu ispitivanja i poboljšati bezbednost medicinskih radnika.

*Ključne reči:* preanalitički uticaji, preanalitička faza, preanalitička automatizacija

### Uvod

Proces koji vodi dobijanju pouzdanog kliničkog laboratorijskog rezultata odvija se kroz preanalitičku, analitičku (analiza uzorka i analitička procena) i postanalitičku fazu (medicinska procena). Preanalitička faza obuhvata: pripremu pacijenta za skupljanje »primeraka materijala«, samo sakupljanje »primeraka materijala« i dalji tretman uzorka do početka njegove analize, kao i poznavanje svih bioloških i interferirajućih faktora kako bi se oni uzeli u obzir pri interpretaciji rezultata.

### Uticaj preanalitičkih faktora na laboratorijska ispitivanja

Preanalitički faktori koje mogu uticati na nivo analita u uzorku su: pol, starost, rasa, trudnoća, nasledni faktori, ishrana, gladovanje, fizička aktivnost, mišićna masa, telesna težina, kofein, alkohol, pušenje, oralni kontraceptivi, lekovi, klimatski uslovi, sezonski uticaji, bioritmovi, menstrualni ciklus, položaj tela, dužina venske kompresije, stres, dijagnostičke i terapijske intervencije, hemoliza, lipemija, hiperbili-

rubinemija, antikoagulansi, konzervansi, egzogena kontaminacija i dr. (1–4).

### Pol

Razlike u referentnim vrednostima između muškaraca i žena verovatno se zasnivaju na varijacijama u telesnoj težini, površini tela i mišićnoj masi. Više vrednosti kod muškaraca imaju sledeći parametri: kreatinin, mokraćna kiselina, kreatin kinaza (CK), gamma glutamil transferaza (GGT), aspartat aminotransferaza (AST), alkalna fosfataza (ALP), trigliceridi, urea, holesterol, gvožđe, broj eritrocita i hemoglobin.

### Starost

Generalno prema starosnoj dobi mogu se izdvojiti četiri grupe referentnih vrednosti i to za: novorođenčad, stariju decu do puberteta, adolescente i starije osobe. Sa godinama raste koncentracija glukoze (približno oko 0,44 mmol/L po dekadi), uree, triglicerida, holesterola (približno oko 0,02 mmol/L po godini) i aktivnosti laktat dehidrogenaze (LDH); dok se kalcijum, fosfat, ukupni proteini i albumin snižavaju. U poređenju sa odraslima, u detinjstvu su više aktivnosti enzima, dok su koncentracije gvožđa, bakra i imunoglobulina niže. Kod dece aktivnost ALP je u boljoj korelaciji sa rastom kostiju i seksualnom zrelošću nego hronološki sa godinama.

Adresa autora:

Marijana Dajak  
Institut za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije  
Višegradska 26, 11000 Beograd, Srbija i Crna Gora  
e-mail: mjdajak@eunet.yu

### Rasa

Razlike koje postoje kao posledica uticaja rase i uticaja socijalnoekonomskih uslova življenja na koncentraciju analita je teško razdvojiti. Primećeno je da su kod crnaca više vrednosti ukupnih proteina, globulina, vitamina B<sub>12</sub>, lipoprotein (a), aktivnosti LDH, CK i ALP, a niže su vrednosti albumina, holesterola, triglicerida i hemoglobina. Tolerancija na glukozu je manja kod crnaca, Polinežana, američkih domorodaca i Eskima. Takođe 50% zapadnih Indijanaca imaju povišenu vrednost  $\alpha$ -amilaze. Rasne razlike su važne zbog distribucije frekvencije krvnih grupa i fenotipa izvesnih plazma proteina (haptoglobin i  $\alpha_1$ -antitripsin).

### Trudnoća

Dobro poznate promene u sintezi hormona u toku trudnoće su udružene s promenama velikog broja analita. Pri interpretaciji laboratorijskih rezultata neophodno je da se vodi računa o gestacionoj nedelji u kojoj je uzorak uzet. Postepeno rastu nivoi ALP, holesterola, triglicerida, bakra, ceruloplazmina, transferina, broj leukocita, progesterona, estradiola, prolaktina, horiogonadotropnog hormona, i alfa-fetoproteina, a snižavaju se nivoi gvožđa, magnezijuma, kalcijuma, ukupnih proteina, albumina, holinesteraze, hemoglobina, hematokrita i broj eritrocita (5).

### Ishrana

Ishrana je glavni uzrok preanalitičke varijabilnosti. Uzorak dobijen neposredno posle obroka je problematičan zbog više razloga. Unošenje hrane prouzrokuje porast vrednosti glukoze, fosfata (može doći i do smanjenja njegove vrednosti), bilirubina, transaminaza i kalijuma; blago se povećavaju mokraćna kiselina, proteini, kalcijum, gvožđe i holesterol. Osobe sa nul-tom krvnom grupom pokazuju značajan porast aktivnosti ALP posle masnog obroka. Količina unosa masti određuje nivo triglicerida u krvi. Postprandijalni turbiditet, odnosno *lipemija*, interferira sa mnogim analitima i to na više načina: dovodi do nehomogenosti uzorka, optičke interferencije (naročito kod određivanja bilirubina, ukupnih proteina, mokraćne kiseline, gvožđa, magnezijuma, aktivnosti kisele fosfataze i dr.), fizičkohemijskih interferencija (lipidi ometaju elektroforetske i hromatografske procedure) i može da ima inhibitorni efekat (lipoproteinske čestice sadrže inhibitore amilaze). Ishrana bogata proteinima povećava koncentraciju uree, holesterola, fosfata i mokraćne kiseline. Metabolit serotoninina, 5-hidroksiindolsirćetna kiselina, je povećan ako je ishrana bogata bananama, ananasom, paradajzom i avokadom. *Kofein* stimuliše ekskreciju kateholamina, blago povećava koncentraciju glukoze u krvi; povećava nivo kortizola, slobodnih masnih kiselina, glicerola, lipida; stimuliše lučenje gastričnog soka, HCl i pepsina; ima diuretski efekat. Dugotrajno kozumiranje kofeina snižava holesterol, a povećava trigliceride.

### Gladovanje

Dugotrajno gladovanje (mesec dana) utiče na snižavanje koncentracije proteina, holesterola, triglicerida, apolipoproteina, uree i tireoidnih hormona i povećanje koncentracije masnih kiselina, glicerola, ketonskih tela, aminokiselina, bilirubina, kreatinina i mokraćne kiseline (kao posledica stimulisane lipolize i hepatične ketogeneze). Ove promene odgovaraju onim koje se sreću posle hirurških operacija ili stanja sa pojačanim katabolizmom. Četrdeset osam časova od početka gladovanja povećava se koncentracija triglicerida, koja je kasnije u stalnom opadanju.

### Fizička aktivnost

Uticaj vežbanja na sastav telesnih tečnosti zavisi od dužine i trajanja fizičke aktivnosti. Kod umerenog vežbanja povećava se u krvi vrednosti glukoze (zbog stresa), insulina (stimulisan glukozom), piruvata, laktata (zbog metaboličke aktivnosti skeletnih mišića), kreatinina (smanjen protok krvi u bubregu), mokraćne kiseline (kompeticija sa laktatom pri ekskreciji), AST, LDH, CK, aldolaze (povećana permeabilnost ćelija skeletnih mišića jer je redukovana celularni ATP), a smanjuje se arterijalni pH i pCO<sub>2</sub>, holesterol i trigliceridi. Kod napornog vežbanja promene su veće: može doći do hipoglikemije, povećava se koncentracija proteina (tečnost i proteini se gube u kapilari-ma, što ima za posledicu njihov prelazak iz intersticijalnih prostora), glikoproteina, transferina,  $\alpha_2$ -makroglobulina, fibrinolitička aktivnost, aktivnost renina, kortizol, aldosteron, hormon rasta, prolaktin, kateholamini, slobodne masne kiseline, kreatinin i urea. Bavljenje sportom snižava nivo holesterola, triglicerida i LDL-holesterola, a povećava HDL-holesterol i masne kiseline.

### Telesna težina

Gojazni u odnosu na osobe s normalnom težinom, imaju više koncentracije mokraćne kiseline, holesterola, insulina, postprandalne glukoze i aktivnost LDH, a niže vrednosti fosfata, a ako su u pitanju žene, i kalcijuma.

### Alkohol

Posle uzimanja alkohola može se sniziti glukoza i povećati laktat, mokraćna kiselina, GGT, trigliceridi i AST. Kod nekih osoba izrazito se povećavaju trigliceridi u periodu od nekoliko sati ili dana u slučaju kozumacije alkohola, čak i u malim količinama. Dugotrajno uzimanje alkohola utiče na povećanje aktivnosti jetrenih enzima u serumu (GGT, transaminaza, glutamat dahidrogenaze).

### *Pušenje*

Stepen promena kao posledica pušenja zavisi od količine, vrste i tehnike pušenja (sa ili bez uvlačenja dima). Posle popušenih 1–5 cigareta, u roku od jednog sata povećava se koncentracija adrenalina, aldosterona, kortizola, hormona rasta, slobodnih masnih kiselina, slobodnog glicerola, glukoze i dr. Hronično pušenje utiče na broj leukocita, lipoproteine, aktivnost nekih enzima, hormone, vitamine, tumorske markere i teške metale. Nikotin deluje i na imuni sistem, koncentracije imunoglobulina (sem IgE) su generalno niže kod pušača.

### *Oralni kontraceptivi*

Oralni kontraceptivi utiču na povećanje tiroksinvezujućeg globulina (44%), ceruloplazmina (70%),  $\alpha_1$ -antitripsina, gvožđa, triglicerida, alanin aminotransferaze (ALT) i GGT.

### *Lekovi*

Potencijalni efekti lekova na laboratorijske testove su mnogobrojni. O tome postoje brojni literaturni podaci, a naročito opsežan prikaz uticaja lekova dat je u *Young*-ovim publikacijama (6, 7).

### *Uticao spoljašnje sredine*

Boravak na povišenoj nadmorskoj visini utiče na porast koncentracije hemoglobina, hematokrita (redukovan je atmosferski  $pO_2$ ), 2,3-difosfoglicerata u eritrocitima, mokraćne kiseline,  $\beta_2$ -globulina i C-reaktivnog proteina (do 65% na 3600 metara). Povišena spoljašnja temperatura dovodi do povećanja plazma volumena (intersticijalna tečnost prelazi u intravaskularni prostor) i smanjena glomerularne filtracije, pa mogu biti smanjeni proteini i kalijum. Kod pojačanog znojenja dolazi do hemokoncentracije. Značajno povećanje holesterola, triglicerida i magnezijuma je primjećeno kod ljudi koji žive u području sa teškom vodom.

### *Sezonski uticaji*

Teško ih je definisati. Do sezonskih promena može doći zbog različite ishrane (sezonska hrana), različite fizičke aktivnosti (veća je u letnjem periodu), i različite veličine temperaturnih varijacija kroz sezone.

### *Bioritmovi*

Individualne, neregularne, varijacije komponenta krvi u toku dana moraju se razlikovati od regularnog cirkadijalnog ritma. Cirkadijalni ritam definiše se kao regularno ponavljanje promena koje su pod uticajem posebnog fenomena za vreme dvadesetčet-

tvoročasovnog perioda. Pomak u cirkadijalnom ritmu dešava se kada se menjaju vremenske zone (npr. putovanje kroz meridijane). Organizam zahteva 6–8 sati za adaptaciju na novu vremensku zonu. Dnevne varijacije i cirkadijalni ritmovi nisu nađeni kod svih osoba. Faktori koji doprinose ovim varijacijama su: položaj tela, fizička aktivnost, unošenje hrane, stres, dnevna svetlost, spavanje ili budnost. Do promena u koncentraciji u toku dana npr. dolazi kod gvožđa i kortizola (50%), kalijuma, hormona, fosfata, uree, lipida, enzima (AST, ALT, kisele fosfataze, ALP, LDH). U toku noći povećana je koncentracija testosterona, TSH; povećano je izlučivanje kalcijuma i magnezijuma, a smanjena je ekskrecija natrijuma, kalijuma i kreatinina; u toku spavanja povećana je aktivnost renina i povećano se luči prolaktin; posle spavanja najveća je sekrecija hormona rasta i insulina. Kod slepih stimulacija osovine hipotalamus-hipofiza je redukovana, pa su i dnevne varijacije smanjene.

### *Menstrualni ciklus*

Plazma koncentracije ženskih seksualnih hormona, kao i drugih hormona (kortikosterona, aldosterona, renina) se menjaju u toku menstrualnog ciklusa. Takođe se menjaju i koncentracije holesterola, albumina, gvožđa, magnezijuma, kalcijuma, fosfata, kreatinina, mokraćne kiseline i dr.

### *Položaj tela*

Promena iz ležećeg u stojeći položaj dovodi do redukcije od oko 10% u volumenu krvi (tečnosti prelazi iz vaskularnog u intersticijalni prostor), odnosno dolazi do hemokoncentracije, pa su povišene vrednosti svih proteina, uključujući enzime, proteinske hormone i jedinjenja vezana za proteine. Ovo povećanje je izraženo u slučaju hemoglobina, broja eritrocita i lekocita, hematokrita, ukupnih proteina, holesterola, albumina, imunoglobulina i kalcijuma. Kod pacijenata sa edemima (npr. kod srčane insuficijencije i ciroze jetre) ove promene su izražajnije. Redukcija plazma volumena dovodi do sniženja krvnog pritiska što dalje uslovljava povećanu sekreciju kateholamina, aldosterona, angiotenzina II, renina, anti-diuretičnog hormona i atrijalnog natriuretičnog peptida. Normalno promene uslovljene prelaskom iz ležećeg u stojeći položaj se završavaju za 10–30 minuta. Nivo promena je veći kod pacijenata sa hipertenzijom, sniženom koncentracijom proteina i kod starijih; a suprotno niži je kod veće koncentracije proteina (monoklonalne gamopatije). Promena položaja tela ne pogađaju slobodne difuzibilne komponente.

### *Dužina venske kompresije*

Venska kompresija ima iste efekte kao promena položaja tela iz horizontalne u vertikalnu poziciju. Ako

kompresija traje 10 minuta, ukupni proteini rastu i do 20%. Kratak period kompresije, do maksimalno 2 minuta, prouzrokuje promene koje nisu značajne. Kada se produži vreme držanja povese sa jednog na 3 minuta dolazi do porasta: proteina (4,9%), gvožđa (6,7%), holesterola (5,1%), AST (9,3%), bilirubina (8,4%), kalijuma (6,2%); dodatan porast CK i AST može nastati zbog traume tkiva zbog uboda igle i staze krvi. Produžena venska kompresija (i hematomi) produžava aPTT. Stiskanje pesnice pre venepunkcije treba izbegavati jer može usloviti povećanje kalijuma, fosfata i laktata. Snižavanje pH usled akumulacije laktata uslovljava povećanje koncentracije jonizovanog kalcijuma.

### *Stres*

Stres povećava lučenje kateholamina i 17-hidroksikortikoida. Plazma nivoi kortizola, renina, aldosterona i hormona rasta su povišeni, a verovatno i TSH i prolaktina.

### *Dijagnostičke i terapijske intervencije*

Do promene sastava telesnih tečnosti mogu dovesti i hirurške operacije (generalno u toku prvih 24 časa posle operacije dolazi do sniženja koncentracije hemoglobina, leukocitoze, povećanja brzine sedimentacije eritrocita, povećanja proteina akutne faze, prolazne blage hiperbilirubinemije i povećanja uree), infuzije (dovode do dilucionog efekta i kontaminiranja uzorka), transfuzije (povišavaju hemoglobin, ukupne proteine, LDH, gvožđe, kalijum i dr.), injekcije (intramuskularne injekcije dovode do povećanja mišićnih enzima i mioglobina), biopsije, palpacije (npr. prostate – povećana kiselost fosfataza), endoskopija, dijaliza, fizički stres (EKG), funkcionalni testovi (za vreme izvođenja testova opterećenja za glukozu, koncentracija kalijuma, magnezijuma i fosfata raste), kontrastna sredstva, jonizujuće zračenje (vodi snižavanju broja trombocita i leukocita, kao i porastu mokraćne kiseline usled lize tumorskog tkiva) i dr.

### *Hospitalizacija i imobilizacija*

Volumen plazme i ekstracelularne tečnosti opada u toku nekoliko dana ležanja. Kod produženog ležanja dolazi do zadržavanja tečnosti, pa se snižavaju ukupni proteini, albumin, proteinski vezane komponente (kalcijum); AST, CK i kalijum (zbog redukcije skeletne mišićne mase).

### *Hemoliza*

Može se desiti intravaskularno usled prekomerno duge kompresije i ekstravaskularno usled jake aspiracije (sakupljanje u špricu) ili ako ostane višak alkohola na mestu punkcije vene. Hemoliza u serumu

ili plazmi je vidljiva kada je koncentracija hemoglobina 0,2 g/L. Blaga hemoliza neznatno utiče na većinu parametara. Hemoliza interferira različitim mehanizmima. Jaka hemoliza izaziva blagi diluicioni efekat na konstituente koji su u eritrocitima u višim koncentracijama nego u plazmi (npr. natrijum, hlorid). U hemolizovanom uzorku povećavaju se intracelularni konstituenti (iz eritrocita) u ekstracelularnoj tečnosti kao npr.: LDH, AST, kiselost fosfataza, kalijum, magnezijum, gvožđe, fosfat i dr. Hemoglobin, ako se nađe u uzorku, dovodi do pozitivne optičke interferencije kod npr. određivanja bilirubina, ukupnih proteina, kreatinina i kalcijuma (titrimetrijske metode). Hemolizom oslobođeni intracelularni konstituenti mogu interferirati s mehanizmom reakcije (adenilat kinaze iz eritrocita utiče na aktivnost kreatin kinaze; hemoglobin svojim peroksidativnim efektom interferira sa diazo metodama za određivanje bilirubina).

### *Hiperbilirubinemija*

Bilirubin u povišenim koncentracijama, pored optičke (merenja u vidljivom delu spektra), može dovesti i do hemijske interferencije (npr. kod određivanja kreatinina Jaffe-ovom metodom, lažno negativni rezultati nastaju zbog oksidacije bilirubina sa alkalijama i stvaranja bezbojnih produkata).

### *Antikoagulansi i konzervansi*

Antikoagulansi koji se dodaju uzorku krvi radi dobijanja plazme mogu da interferiraju s biohemijskim određivanjem na više načina. Ako su u obliku rastvora (citrat, EDTA) oni dovode do opšteg diluicionog efekta. Pošto su u obliku natrijumovih, kalijumovih, litijumovih ili amonijum soli, oni dovode do kontaminacije uzorka s pomenutim jonima. Citrat i oksalat povlače vodu iz ćelija što dovodi do razmene elektrolita i drugih konstituenata kroz ćelijske membrane (oksalat lažno snižava koncentraciju hlorida u uzorku jer uslovljava ulazak hlorida u ćelije). Antikoagulansi stvaraju helate ili nedisovane soli s kalcijumom, gvoždem, magnezijumom, što snižava njihovu koncentraciju pri određivanju. Inhibiraju brojne enzime (ALP; kiselost fosfatazu; CK; LDH; amilazu i dr.). Natrijum fluorid daje negativnu interferenciju pri određivanju fosfata jer kompleksira molibdat u reagensu. Heparin aktivira lipoproteinsku lipazu, a inhibira kiselost fosfatazu iz uzorka. U hepariniziranoj plazmi kalijum je niži (sprečena je koagulacija pa se ne oslobađa iz ćelija), a protein je viši (zbog prisustva fibrinogena) nego u serumu.

Konzervansi, koji se dodaju urinu da bi se smanjio razvoj bakterija ili da bi se rastvorili konstituenti koji bi se inače taložili, mogu ometati analitički postupak. Tako npr.: formalin u velikim količinama precipitira ureu i inhibira izvesne reakcije (npr. inhibira urikazu pa dovodi do lažnog sniženja mokraćne kiseline

u urinu). Zakišeljavanje urina ispod pH 3 dovodi do precipitacije urata. Timol i toluen interferiraju s nekoliko analitičkih metoda (npr. pri određivanju koncentracije magnezijuma, natrijuma i kalijuma metodama suve hemije) i dr.

#### *Egzogena kontaminacija*

Uzorak se može kontaminirati s bakterijama, ostacima deterdženata, fosfatima, gvoždem, usled neadekvatnog čišćenja epruveta, pipeta i dr. pribora koji se koristi u preanalitičkoj ili analitičkoj fazi. Tako npr. kontaminacija bakterijama koje stvaraju fosfolipaze, dovodi do promena u lipidnim frakcijama [povećavaju se hilomikroni i trigliceridi, a smanjuju se  $\beta$ - i pre- $\beta$ -lipoproteini, fosfolipidi, lipoprotein (a)].

#### *Antitela*

Antitela iz uzorka mogu interferirati u imunohemijskim, biohemijskim i hematološkim određivanjima. Antitela protiv eritrocita koja dovode do aglutinacije ili krioglobulini koji kristališu u partikule različitog oblika, ometaju elektronsko brojanje ćelija krvi. Pojedini enzimi stvaraju komplekse s imunoglobulinima što produžava njihovo poluvreme života i dovodi do povećanja enzimske aktivnosti (npr. makroamilazemija gde je povišena aktivnost amilaze u serumu, a normalna u urinu, bez kliničkih simptoma bolesti; kao i makro CK tip I koji predstavlja kompleks između izoenzima CK-BB i IgG, a dovodi do lažnog povećanja aktivnosti srčanog izoenzima CK-MB). U imunoodređivanjima mogu interferirati autoantitela kao što je slučaj kod određivanja trijodtironina i tiroksina.

#### *Plazma umesto seruma*

Kalijum, fosfat, LDH i kisela fosfataza su značajno viši u serumu nego u hepariniziranoj plazmi. Razlog ovome je njihovo oslobađanje iz eritrocita i trombocita u toku koagulacije. Ukupan protein je niži u serumu pošto je odsutan fibrinogen. U EDTA plazmi inhibirani su ALP, ACP i leucin aminopeptidaza. EDTA može prouzrokovati pseudotrombocitopeniju.

#### *Kapilarna umesto venske krvi*

Kapilarna krv daje vrednosti koji se teže reprodukuju nego one dobijene iz venske krvi, zato što sastav kapilarne krvi varira više nego u venskoj krvi; osim toga česte su i greške pri sakupljanju. Uzorci kapilarne krvi obezbeđuju klinički pouzdanije rezultate nego uzorci dobijeni venepunkcijom u slučaju komponenti koje su jako zavisne od mišićnog metabolizma kao što su gasovi krvi, laktat i glukoza (testovi opterećenja). Koncentracija glukoze je veća u kapilarnoj nego u venskoj krvi, dok su ukupni proteini, kalcijum i kalijum niži.

### **Sakupljanje, tretman, priprema i čuvanje uzorka**

Uzorak pacijenta za kliničko-laboratorijsko ispitivanje mora biti pravilno sakupljen, u određeno vreme, uz pravilnu pripremu pacijenta. Takođe, uzorak mora biti pravilno identifikovan, transportovan do laboratorije, zabeležen (kompjuterski ili manuelno) i tretiran pre nego što je spreman za analizu. Posle analize, uzorak se čuva obično radi ponavljanja analiza ili zbog dodatnih testova koji se mogu tražiti iz istog uzorka. Laboratorijsko osoblje je obučeno za ove postupke, a u mnogim laboratorijama u svetu postoje specijalizovani tehničari za sakupljanje uzoraka koji se zovu flebotomičari. Reč flebotomičar znači »onaj koji vadi krv«, međutim ovi tehničari su odgovorni za sakupljanje i drugih vrsta bioloških uzoraka, kao i za rukovanje uzorcima do analize. S obzirom na to da laboratorija pruža uslugu pacijentu, pored samih tehničkih postupaka sakupljanja i tretmana uzoraka za analizu, važan je i odnos prema pacijentu. Profesionalan, ali obziran i prijateljski odnos prema pacijentu, članovima njegove porodice i drugom medicinskom osoblju, se mora održavati. Takođe, važno je voditi računa i o bezbednosti odnosno zaštiti osoblja i pacijenata. Svi ovi detalji su preduslov za laboratoriju kako bi obezbedila visok kvalitet laboratorijskih rezultata (8, 9).

#### *Bezbednost laboratorijskog osoblja*

Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (*Centers for Disease Control and Prevention; CDC*) dao je preporuke za prevenciju od prenošenja virusa humane imunodeficijencije i hepatitisa B, kao i drugih patogena krvi u postupcima pružanja zdravstvene zaštite (10). Generalno preporučuje se da laboratorijsko osoblje treba da postupa sa svakim pacijentom kao da je infektivan. Uobičajene mere predostrožnosti pri sakupljanju i rukovanju sa uzorcima su sledeće: treba koristiti rukavice, zaštitnih maske, kecelje; promeniti rukavice za svakog sledećeg pacijenta; oprati ruke neposredno posle skidanja rukavica; oprati ruke odmah ako je koža kontaminirana sa krvlju ili drugim telesnim tečnostima; izbegavati direktan kontakt sa uzorcima ako su prisutna oštećenja na koži, dok se to ne sanira; voditi računa pri rukovanju sa iglama, lancetama i dr. oštrim predmetima; posle vađenja krvi iskorišćena igla se ne sme ponovo zatvarati, već je treba odmah baciti u neprobojni kontejner i dr. Ove mere zaštite važe i za pacijente u slučaju da je osoba koja vadi krv nosilac nekog infektivnog agensa; naročito su podložni pacijenti sa imunodeficijentnim i imunosupresivnim stanjima (leukemije, teške opekotine, transplantacije, terapija zračenjem i dr.).

#### *Identifikacija pacijenta i obeležavanje uzorka*

Ispravna identifikacija pacijenta je od presudnog značaja. Tehničar koji sakuplja »primerak materijala«

mora da proveri ime pacijenta (tako što ga pita) kao i da potvrdi da li se ono slaže sa imenom na uputu (doktorskim zahtevom) i sa imenom na nalepnicama za obeležavanje uzoraka. Hospitalizovani pacijenti bi trebali da imaju identifikacione narukvice. Odmah po sakupljanju, »primerci materijala« treba da se obeleže sa nalepnicama, koje treba minimalno da sadrže sledeće informacije: ime pacijenta, njegovu lokaciju (ime bolnice, odeljenje, broj sobe), datum i vreme sakupljanja i inicijale flebotomičara. Kod većina laboratorija u svetu nalepnice se prave kompjuterski i to u okviru laboratorijskog informacionog sistema. Manuelno obeležavanje je vremenski zahtevno i čest je uzrok greške.

Zahtevi za laboratorijske testove se unose u bolničke informacione sisteme, odakle se informacije prenose u laboratorijski informacioni sistem (LIS); zatim pomoću LIS prave se sve neophodne nalepnice, za sve potrebne uzorke, koje sadrže podatke o pacijentu uključujući jedinstveni prijemni (identifikacioni, laboratorijski) broj i bar kod. Dodatne informacije, kao što su traženi test i tip uzorka, mogu se ubaciti na nalepnicu. Osoba koja sakuplja uzorak manuelno dodaje vreme uzorkovanja i njegove inicijale.

#### *Sakupljanje uzorka*

Prvi korak u sakupljanju uzorka je da se zahtev doktora pravilno interpretira u smislu odabira vrste vakutajnera, količine uzorka, vremena sakupljanja, hitnosti i pripreme pacijenta za sakupljanje. Prilikom vađenja važno je znati preanalitičke varijable koje mogu uticati na rezultate testa, naročito ako se one mogu kontrolisati. Od najvišeg značaja je identifikacija pravog pacijenta i pravilno obeležavanje uzoraka.

Period gladovanja pre vađenja treba da je najmanje 8–12 sati; pacijent može da pije samo vodu, bez uzimanja kafe ili soka. Uzorak krvi treba da se sakuplja pre jutarnje doze bilo kog leka. Nekoliko dana pre sakupljanja uzorka, treba izbegavati određenu vrstu hrane, ako ona može dovesti do interferencija, kao i gladovanje duže od 24 sata. Takođe, pre vađenja krvi najmanje 24 časa, pacijent ne bi trebalo da bude izložen pojačanoj fizičkoj aktivnosti i da ne uzima alkohol.

Vreme sakupljanja uzorka treba generalno da je između 7 i 9 časova ujutro. Radi praćenja toka različitih kliničkih stanja uzorci se sakupljanju i u određenim vremenskim periodima; važno je uvek tačno naznačiti vreme uzorkovanja. Vreme uzorkovanja za hormone testove treba da je u skladu sa njihovim dnevnim varijacijama. Kod određivanja koncentracije lekova u krvi, vreme uzorkovanja zavisi od vremena kada je lek uzet, odnosno krv se sakuplja obično pre uzimanja sledeće doze, tj. kada je lek dostigao svoje stabilno stanje (»*steady state*«) u krvi; ili kada se postigne njegov maksimum u krvi (30 minuta posle intravenske doze).

Pre vađenja pacijent treba da leži ili sedi 15 minuta. Povesku ne bi trebalo držati više od 2 minuta. Ako pacijent prima intravensku infuziju, krv treba vaditi iz druge ruke. Kod teških pacijenata gde se često vadi krv, krv se može uzimati i sa mesta gde se prima infuzija. Da ne bi došlo do kontaminacije sa sastojcima infuzije, treba prvo odbaciti nekoliko mililitara krvi, a onda uzeti krv za analizu. Obično je dovoljno odbaciti 5–7 mL krvi; ako infuzija sadrži lek koji treba da se određuje treba odbaciti 10–15 mL krvi; ako pacijent prima heparin, a uzima se krv za koagulacione testove, treba odbaciti 30 mL krvi.

*Venepunkcija* sa vakutajner sistemima je najdirektnija i najefikasnija metoda za dobijanje uzorka krvi. Sistem se sastoji od adaptera (držač epruvete), duple igle i vakumisane epruvete. Veličina (broj) igle je najčešće 19–23; što je taj broj veći, dijametar igle je manji. Igle sa velikim dijametrom mogu stvoriti hematome, a sa malim hemolizu. Špric se koristi, umesto vakutajnera, kod pacijenata koji imaju krte vene (oštete se pod uticajem vakuuma) ili kod starijih gde je pritisak u venskoj krvi slab.

*Vakutajneri* su laki za upotrebu i manja je verovatnoća spoljne kontaminacije sa krvlju. Boja čepa je u zavisnosti od aditiva u epruveti. Dodati antikoagulansi i aditivi u epruvetama se nalaze u tačno određenim količinama i koncentracijama i prilikom punjenja mora se ispoštovati količina krvi namenjena za tu epruvetu, kako bi se obezbedio optimalni efekat ovih aditiva.

Epruvete bez aditiva: crveni zapušači, za biohemijska određivanja.

Epruvete sa gel separatorom: na njima je oznaka SST (*serum separator tube*); sadrže inertan polimerni gel, specifična gustina gela je takva da formira barijeru između koagulima i seruma za vreme centrifugiranja. Postoje i epruvete sa aktivatorom koagulacije koji smanjuje vreme potrebno da se formira koagulum. Efekti aktivatora na testove nisu dovoljno ispitani.

Epruvete sa etilentetrasirćetnom kiselinom (EDTA) u vidu soli (dinatrijumova ili dikalijumova so): ljubičasti zapušači, sadrže 2 mg/mL EDTA; koriste se za rutinska hematološka određivanja, helatira kalcijumove jone koji su potrebni za koagulacioni proces; K<sub>2</sub>EDTA je radije korišćena forma za hematologiju.

Epruvete sa heparinom: zeleni zapušači; heparin je u vidu amonijumove, litijumove, natrijumove ili kalijumove soli; sadrže 25 IU/mL krvi; deluje kao antitrombin, ali ima samo privremeni efekat na koagulaciju – posle 24 sata plazma će početi da formira fibrinske konce;

Epruvete sa oksalatom: sivi zapušači; kalijum oksalat formira nerastvorne komplekse sa kalcijumom; obično se koristi u kombinaciji sa natrijum fluoridom (inhibira glikolizu, odnosno stabilizuje koncentraciju glukoze).

Epruvete s natrijum citratom: plavi zapušači; sa drže 0,105 mol/L (3,2%) trinatrijum citrat dihidrat; jedan deo citrata ide na 9 delova krvi; sprečava koagulaciju vezivanjem kalcijumovih jona; široko se koristi za koagulacione procedure. Količinu citrata u epruveti treba smanjiti ako pacijent ima hematokrit iznad 55%. Količina krvi koju treba dodati u standardnu epruvetu sa citratom može se izračunati na sledeći način:  $[(60/100) - \text{hematokrit}] \cdot 4,5$  (11).

Drugi stabilizatori koji se dodaju su inhibitori proteolitičkih enzima (za analizu nekih proteina i peptida) i antioksidansi (za kateholamine koji su osetljivi na oksidaciju). Kao inhibitori mogu se koristiti: EDTA (inhibira metaloproteaze), aprotinin, leupeptin i pepstatin. Kao antioksidansi mogu se koristiti: EDTA (štiti od oksidativnog oštećenja tako što vezuje gvožđe), glutation, natrijum metabisulfit i askorbinska kiselina.

Epruvete sa aditivima se moraju promešati blagom inverzijom (oko 8 puta treba promešati epruvetu). Da bi se minimizirali efekti unakrsne kontaminacije aditiva između epruveta, pri vađenju krvi, mora se ispoštovati sledeći redosled: prvo se vadi sterilni uzorak za krvnu kulturu, zatim epruvete bez aditiva (staklene ili plastične sa gelom), pa epruvete sa citratom, heparinom, EDTA i na kraju sa oksalatom i fluoridom. Za određivanje koagulacionih faktora, epruveta sa citratom ne bi trebala biti prva kod uzorkovanja; ako se samo vadi krv za faktore, prvo treba odbaciti malo krvi, pa tek onda uzeti krv za epruvetu sa citratom.

Kratak opis tehnike vađenja: napipati odgovarajuću venu (obično je to srednja kubitalna vena u *antecubital fossa* ili prevoju lakta), mesto punkcije se dezinfikuje 70% izopropanolom ili etanolom, povska se veže 10 cm iznad *antecubital fossa*, zategniti kožu palcem slobodne ruke na mestu vađenja, ubosti iglu pod uglom od 30° sa vrhom na dole, izvaditi krv u epruvete (koristeći vakutajnerski sistem), skinuti povesku, posle uklanjanja igle zaustaviti krv pritiskom sterilne komprese na mestu uboda.

*Punkcija kože* (kapilarna punkcija) za dobijanje uzorka krvi se koristi za pedijatrijske pacijente ili kod odraslih u slučaju prevelike gojaznosti, teških opekotina, sklonosti trombozi ili kod gerijatrijskih pacijenata. Punkcija se vrši sterilnom lancetom na ušnoj školjki, jagodici prsta, peti (kod novorođenčadi do 3 meseca) ili palcu stopala (kod male dece starije od 3 meseca). Ako je mesto uboda hladno treba ga lagano izmasirati ili zagrejati sa toplom kompresom. Pri vađenju prva kap krvi treba da se odbaci jer može da sadrži tkivnu tečnost ili da bude kontaminirana alkoholom.

*Arterijska punkcija* zahteva značajnu veštinu i obično je izvodi lekar ili specijalno obučeni tehničari ili sestre. Mesta arterijalne punkcije su: radijalna arterija ručnog zgloba, brahijalna arterija lakta i femoralna

arterija prepone. Arterijska krv je potrebna za gasne analize, a retko i za druge testove.

*Urin.* Urin se sakuplja kao pojedinačna porcija, 24-časovni uzorak ili vremenski uzorak (period sakupljanja treba da je dovoljno dug da se minimiziraju uticaji dnevnih varijacije). Pacijentu treba dati precizne instrukcije za sakupljanje uzorka urina. Pojedinačna porcija je obično prvi jutarnji urin (najkoncentrovaniji je), sakupljen kao »srednji mlaz«; koristi se za kvalitativna hemijska, mikrobiološka i citološka ispitivanja. Analize treba uraditi u roku od 30 minuta, jer se razvijaju bakterije. Ako se skuplja za urinokulturu, predhodno treba obrisati genitalije sa blagim antiseptičnim sredstvom (sapun). Sakupljanje 24-časovnog uzorka urina obuhvata dnevni i noćni period; na početku sakupljanja isprazniti bešiku i od tada svaku porciju sakupljati u odgovarajući kontejner do istog vremena sutra ujutro. Brzina protoka urina treba da je veća od 1 mL/min, što se održava odgovarajućim unošenjem tečnosti. 24-časovni uzorak se koristi za kvantitativne analize. Mogu se dodati konzervansi koji imaju ulogu da smanje aktivnost bakterija, hemijsko razgrađivanje, atmosfersku oksidaciju nestabilnih komponenti ili da rastvore neke konstituente. Kao konzervansi koriste se npr.: 6 mol/L HCl (jaka kiselina) za stabilizaciju koncentracije kalcijuma, magnezijuma, fosfata, oksalata, kateholamina i njihovih metabolita (vanilmandelična kiselina); borna kiselina (slaba kiselina) za stabilizaciju steroidnih hormona i njihovih metabolita kao što su aldosteron, kortizol, 17-hidroksi- i 17-ketosteroidi; timol, formalin i dr.

*Druge vrste »primeraka materijala«:* feces (ispituje se na prisustvo okultnog krvarenja, masti, skroba, mišićnih vlakana, parazita i patogenih bakterija), cerebrospinalna tečnost (dobija se lumbalnom punkcijom, prva epruveta je za hemijska i imunološka ispitivanja, druga je za mikrobiološka ispitivanja, a treća za broj i diferencijaciju ćelija), amnionska tečnost, sinovijalna tečnost, serozne tečnosti (pleuralna, perikardijalna, peritonealna), želudačni sok i dr.

#### *Transport uzoraka*

Transport uzoraka mora se vršiti na takav način da je analitički rezultat nakon transporta isti kao onaj odmah posle sakupljanja uzorka. Uzorak treba da stigne do laboratorije u roku od jednog sata. Prenos do laboratorije obavlja kurir ili se uzorci transportuju pomoću sistema pneumatske tube. Uzorci za neke laboratorijske testove zahtevaju poseban tretman, odnosno moraju se držati na niskoj (npr. gasne analize, laktat, amonijak) ili povišenoj temperaturi – 37 °C (npr. krioglobulini, kriofibrinogen, hladni aglutinini) ili zaštićeni od svetla (npr. bilirubin, vitamin A). Najbolje sredstvo za hlađenje je ledena voda – kockice leda pomešane sa vodom i zapakovane u kesu za hlađenje (može da održi temperaturu na 1–4 °C nekoliko sati).

### *Tretman uzorka do analize*

Posle prijema uzorka u laboratoriju, zabeleže se informacije sa nalepnice, kao i traženi testovi sa uputa manuelno ili preko u laboratorijskog informacionog sistema (podaci su obično već u LIS). Priprema uzorka za analizu uključuje: centrifugiranje da bi se izdvojio serum ili plazma, merenje zapremine vremenskih uzoraka urina, priprema za slanje u drugu laboratoriju, bistrjenje lipemičnih uzoraka i dr.

Za koagulaciju i retrakciju koaguluma i izdvajanje seruma potrebno je oko 20–30 minuta na sobnoj temperaturi. Ovaj proces se produžava ako se uzorci nakon vađenja stave u frižider ili ako se koriste plastične epruvete bez aktivatora koagulacije. Puna krv se centrifugira na 2000 g, 15 minuta. Temperatura tokom centrifugiranja ne sme biti viša od 37 °C. Serum od koaguluma treba odvojiti u roku od 2 sata posle vađenja krvi.

Za bistrjenje lipemičnih uzoraka može se koristiti fluorisani hidrokarbon (freon). Serum ili plazma se meša u staklenoj epruveti sa freonom u odnosu 1:1 (mešati 3 minuta, centrifugirati 6 minuta na 3000 g; supernatant je izbistreni serum, dodirni sloj sadrži precipitirane lipoproteine, a donji sloj je višak freona).

Ako se uzorci šalju u drugu laboratoriju, treba da se zapakuju u kontejnere koji održavaju potrebnu temperaturu (ispod 25 °C, a za transport u zamrznutom stanju koristiti suvi led koji obezbeđuje temperaturu od –70 °C), nepropustljivi su za vlagu i svetlost i sadrže unutrašnji sloj materijala koji može da apsorbira. Svaka laboratorija treba da ima listu instrukcija o sakupljanju i pripremi uzoraka za slanje i načinu njihovog transporta.

### *Čuvanje uzoraka*

Uzorci se čuvaju ako se analiziranje ne može obaviti odmah ili ako posle analize treba ponoviti neki test iz uzorka. Za svrhu ponavljanja periodičnog čuvanja za različite parametre su sledeći: za supstrate u serumu – 6 dana na 4–8 °C (izuzetak su trigliceridi, glukoza, bilirubin); za aktivnost enzima u serumu – 3–5 dana na 4–8 °C (izuzetak je LDH i kisela fosfataza); za proteine, imunoglobuline i specifična antitela – do nedelju dana na 4–8 °C; za hormone i tumorske markere – do 3 dana na sobnoj temperaturi (izuzetak su peptidni hormoni; naročito nestabilni parametri su: ACTH, renin, vazoaktivni intestinalni peptidi, insulin, hormon rasta i kalcitonin); za protrombisko vreme i aPTT u citratnoj plazmi – 8 sati, a za koagulacione faktore – 3 sata na sobnoj temperaturi; za ukupan broj krvnih ćelija uključujući i trombocite, bez formule (puna krv sa EDTA) – 24 sata na sobnoj temperaturi; za diferencijalnu formulu – 5 sati.

Ako se uzorci čuvaju na duže vreme treba ih zamrznuti na –20 °C ili –70 °C. Stabilnost većine parametara na –20 °C je nekoliko nedelja ili meseci, a

na –70 °C može biti i nekoliko godina. Naročito nestabilni parametri kao što su peptidni hormoni se odmah zamrzavaju, ako se ne određuju odmah. Proces odmrzavanja treba da je postepen (odmrzavati u toku noći na 4–8 °C ili u vodenom kupatilu).

### **Preanalitička informatika**

Greške koje se javljaju u preanalitičkoj fazi su: pogrešna identifikacija pacijenta, nečitak rukopis, neodgovarajući test, nekorektna epruveta ili kontejner, neadekvatna zapremina uzorka, nevalidan uzorak (hemolizovan ili razblažen), koagulisana plazma, uzorak sakupljen u pogrešno vreme ili na pogrešan način (urin nije zakišeljen), neodgovarajući uslovi transporta (otvoreni kontejner, uzorak nije donet »na ledu«) i dr. Korišćenje laboratorijskog informacionog sistema (LIS) u različitim fazama preanalitičkog procesa je znatno umanjilo broj grešaka. Međutim, preanalitičke aktivnosti su i dalje najčešći uzrok laboratorijskih medicinskih grešaka. Podaci jedne studije su pokazali da od skoro 90 000 grešaka registrovanih u kliničko-dijagnostičkim procesima, 41% grešaka se desio u preanalitičkoj, 55% u postanalitičkoj, a samo 4% u analitičkoj fazi (12). Najvažnije od svega je da informacioni sistem obezbedi pravilnu i rigoroznu identifikaciju pacijenta i pozitivnu identifikaciju uzorka na način koji obezbeđuje nedvosmisleno praćenje od sakupljanja uzorka do izdavanja rezultata (8).

### *Identifikacija pacijenta*

Već duže vreme bar kod je dobro utvrđeno identifikaciono sredstvo označavanja pacijenta. Bar kod se štampa u okviru LIS na traku koja se stavlja na ručni zglobovi pacijenta. Novijom tehnologijom su napravljene identifikacione pločice sa radiofrekvencijom koje se mogu zalepiti na bilo kom delu tela. Ove pločice su prevažile neke nedostatke bar kodova. Međutim, i bar kod i radiofrekventna pločica imaju zajednički bitan nedostatak (uslov greške) – čovek je taj koji mora da utvrdi identifikaciju pacijent i da ga »obeleži« sa identifikacionom pločicom.

pozitivna identifikacija samog pacijenta je prvi korak u pružanju zdravstvene zaštite. To ponekad nije lako zato što pacijent može da koristi karticu zdravstvenog osiguranja svog rođaka ili da se predstavi pod drugim imenom zbog svoje prošlosti. Za prevazilaženje ovakvih problema identifikacije predlaže se primena biometrike u zdravstvenoj zaštiti, odnosno identifikacija pacijenta preko njegovih individualnih karakteristika (npr. otisci prstiju), genetskih karakteristika ili osobina u ponašanju (boja glasa, rukopis).

### *Elektronski unos zahteva za testove*

Uobičajeno je da lekari zahtev za određenu analizu usmeno ili pismeno predaju sestri ili službeniku



koji to ubacuju u kompjuterski sistem. Da bi se izbegle greške koje nastaju u ovakvom vidu komunikacije, lekar bi trebalo direktno da ubacuje zahtev u kompjuter, odnosno u LIS. Međutim, to oduzima vreme. Danas se dosta radi na tome kako to organizovati. Da bi se olakšala komunikacija, tj. prenos laboratorijskih zahteva od kompjutera u bolnicama ili lekarskim ordinacijama do LIS, razvijeni su brojni standardi. U svetu veliki broj instituta usvojio je ASTM (*American Society for Testing and Materials*) E1238 standard (13) za komunikaciju laboratorijskih rezultata koji je konvertovan u HL7 (*Health Level 7*) standard (14).

#### Organizacija procesa uzorkovanja

Tehničaru pre uzimanja uzorka preko LIS treba da se obezbedi štampanje nalepnica i radne liste za uzorkovanje. Baza podataka LIS treba da sadrži informacije o vrsti epruvete, volumenu krvi i specijalnom rukovanju uzorkom za određenu analizu (treba da piše na nalepnici). Nalepnice se mogu lepiti na epruvete pre ili posle uzorkovanja. Da bi se izbegla greška (zamena uzorka) trebalo bi skenirati bar kod na ruci pacijenta i bar kod na nalepnici i proveriti da li se oni slažu.

Kada se uzorak primi u laboratoriju, jednostavnim skeniranjem bar koda, u LIS se menja njegov status iz »nesakupljen« (*uncollected*) u »primljen« (*received*). Treba samo ubaciti tačno vreme uzorkovanja (to može i automatski preko LIS). Ako je prisutna hemoliza, lipemija, fibrinski konci ili je nedovoljna zapremina, to se takođe ubacuje u LIS (postoje standardizovani formati za ove napomene).

#### Automatizacija preanalitičke faze

Prvi korak u automatizaciji etapa preanalitičkog procesa bilo je uvođenje bar koda kao sredstva pozitivne identifikacije uzorka. Transkripcija podataka korišćenjem bar kodova se procenjuje da je jedan bilion puta pouzdanije nego manuelno rukovanje podacima (15). ASTM standard preporučuje da se kod 39 ili kod 128 trebaju koristiti isključivo za medicinske uzorke i da veličina nalepnice ne treba da bude duža od 60 mm i šira od 10 mm. Trenutno najpopularnija tri formata bar koda u laboratorijama su: kod 3 od 9, kod 49 i kod 128. Prednosti novijih tipova kodova, kao što je *matriks* kod i dvodimenzionalni kod (kod *PDF417*) su: veća gustina podataka, mogućnost očitavanja u bilo kojoj orijentaciji i sa zakrivljenih površina, mogućnost korekcije greške i dr.

Naredni korak u preanalitičkoj automatizaciji je bilo uvođenje robotskih sistema. Dr *Masahide Sasaki* je u ranim 1980-im na *Kochi* medicinskom fakultetu u Japanu, prvi uveo mobilne robote koji su prenosili uzorke pacijenata do različitih analitičkih radnih stanica (16). Ovaj pristup je postao poznat kao totalna laboratorijska automatizacija (TLA). Nekoliko go-

dina kasnije grupa naučnika na Univerzitetu u Virdžiniji je razvila sistem gde se iz centralne laboratorije preko kompjutera rukovodi udaljenim laboratorijama u kojima se nalaze analizatori koji mogu odmah da odrade analizu posle uzorkovanja, jer koriste punu krv kao uzorak (17). Rukovanje podacima, kao što su identifikacija pacijenta, potrebne analize, pregled rezultata testa, obavlja se preko informacionog sistema i kontroliše se iz centralne laboratorije. Ovaj način određivanja analize pored pacijenta poznat je pod nazivom »*point-of-care*« (POC). TLA i POC su bile osnove za dalji razvoj automatizacije.

Poslednjih godina razvijeni su različiti produkti i procesi koji obezbeđuju automatizaciju različitih stupnjeva preanalitičkog procesa. Tako su npr. dizajnirane sprave koje omogućavaju automatski monitoring glukoze kod dijabetičara, a u Londonu je napravljen i ispitani robotički sistem za venepunkciju (18). Takođe postoje sprave koje mogu da utvrde: da li je uzorak sakupljen u odgovarajućoj epruveti (preko bar koda na epruveti), sa odgovarajućom bojom čepa (preko sistema imaginacije), u potrebnoj količini i koji mogu da procene (spektrofotometrijskim merenjem) adekvatnost uzorka (prisustvo hemolize, lipemije i dr.) (19).

Za automatski transport uzorka razvijeni su različiti sistemi, kao što je sistem pneumatske tube (pomoću vakuuma ili pozitivnog pritiska se pokreću nosači sa uzorcima), električna vozila, mobilni roboti (20) i sistem prenosnih traka. Svi ovi sistemi su kompjuterski kontrolisani.

Automatsko sortiranje uzoraka je uglavnom organizovano na 3 načina: trijaža uzoraka, sa kružnih ili kontinuiranih prenosnih traka, za različite analitičke jedinice (biohemija, hematologija, koagulacija, imunologija) se vrši pomoću robotske ruke; ili posebne trijažne stanice prvo sortiraju uzorke koji se zatim transportuju do analitičkih jedinica.

Svi ovi procesi treba da su pod kontrolom centralnog kompjutera, preko koga se može pratiti uzorak u bilo kojoj fazi kliničko-laboratorijskog procesa (21).

#### Standardizacija laboratorijske automatizacije

Kvalitet ili akreditacija nekog sistema ne mogu se uspešno uspostaviti ukoliko ne postoji definisan standard od koga sistem zavisi (22). Na nivou NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) razvijeno je 5 međusobno povezanih standarda koji se odnose na dizajn, kompatibilnost i integraciju automatizovanih laboratorijskih sistema širom sveta. To su: AUTO1-A standard koji definiše izgled, veličinu i karakteristike kontejnera i njihovih nosača; AUTO2-A standard koji definiše specifikacije za korišćenje linearnih bar kodova za identifikaciju uzorka; AUTO3-A standard se odnosi na elektronsku razme-

nu podataka i informacija između komponenti i kompjutera u automatizovanim laboratorijama; AUTO4-A standard uključuje specifikacije za status uzorka u vreme analize i manipulacije podacima, za njegove karakteristike, za kontrolu kvaliteta, kalibraciju i inventarske podatke i definisanje vrste grešaka; i AUTO5-A za elektromehaničko povezivanje između instrumenata i sprava za manipulaciju uzorcima (auto-

matsko centrifugiranje, deljenje, karakterisanje i čuvanje uzorka).

Potpuna automatizacija kliničko laboratorijskog procesa u budućnosti će verovatno poboljšati kvalitet i reproducibilnost testiranja, skratiti vreme dobijanja laboratorijskog rezultata, smanjiti cenu testiranja i poboljšati bezbednost medicinskih radnika.

## PREANALYTICAL PHASE OF CLINICAL-DIAGNOSTIC PROCESS

*Marijana Dajak*

*Institute of Medical Biochemistry, Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia & Montenegro*

*Summary:* Preanalytical phase includes the preparation of the patient for sample collection, the sample collection and treatment of sample up to begin of the analysis. Preanalytical variables which can influence on analyte level are: gender, age, race, pregnancy, nutrition, physical activity, body weight, caffeine, smoking, oral contraceptives, drugs, climate, biorhythms, posture, duration of venous compression, stress, hemolysis, lipemia, exogenous contamination etc. The knowledge and inspection of these preanalytical variables is prerequisite for laboratory to provide high quality of results. In the future, total automation of clinical laboratory process will probably improve the quality and reproducibility of testing, shorten test turnaround time, reduce cost of testing and improve medical workers safety.

*Key words:* preanalytical variables, preanalytical phase, preanalytical automation

### Literatura

1. Young DS, Bermes EW. Specimen collection and processing; sources of biological variation. In: Burtis CA, Ashwood ER. eds. Tietz textbook of clinical chemistry. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Saunders, 1994: 58–101.
2. Thomas L. Clinical laboratory results. In: Thomas L. eds. Clinical laboratory diagnostics: use and assessment of clinical laboratory results. 1st ed. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 1998: 1453–63.
3. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta D. Samples: from the patient to the laboratory. Darmstadt: GIT VERLAG GMBH, 1996.
4. Jacobs DS, DeMott WR, Oxley DK eds. Laboratory test handbook. 5th ed. Hudson: Lexi-Comp Inc, 2001.
5. Ramsay MM, James DK, Weiner CP, et al. Normal values in pregnancy. London: WB Saunders Co, 1996.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Volume one: listing by test. 5th ed. Washington, DC: AACC Press, 2000.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Volume two: listing by drug. 5th ed. Washington, DC: AACC Press, 2000.
8. Ward-Cook KM, Lehmann CA, Schoeff LE, Williams RH eds. Clinical diagnostic technology. The total testing process. Volume 1: The preanalytical phase. Washington: AACC Press, 2003.
9. Majkić-Singh N. Biološki materijali. U: Majkić-Singh N. Medicinska biohemija. Društvo medicinskih biohemijara Jugoslavije, 1994 (Subotica, Birografika): 28–52.
10. Centers for disease control and prevention. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and other bloodborne pathogens in health-care settings. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1988; 37: 377–88; <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/Blood/UNIVERSA.HTM>.
11. Gilmer PR Jr. Preanalytical variables in coagulation testing. In: Triplett DA, ed. Standardization of coagulation assays: an overview. CAP Conference/Aspen; Skokie, IL: College of American Pathologists, 1980.
12. Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, Rubboli F. Errors in laboratory medicine. Clin Chem 2002; 48 (5): 691–8.
13. ASTM E31.11 Committee, C. McDonald, chairman. Standard specification for transferring clinical observation between independent computer systems, ASTM, Philadelphia, 1988 edition, E1238-88; 1991 revision, E1238-91; 1994 revision, E1238-94; 1997 edition, E1238-97.
14. [www.hl7.org](http://www.hl7.org)-accessed 28 May 2002.

15. Maffetone MA, Watt SW, Whisler KE. Automated specimen handling: barcodes and robotics. *Laboratory Medicine* 1990; 21 (7): 436–43.
16. Sasaki M, Kageoka T, Ogura K, Kataoka H, Ueta T, Sugihara S. Total laboratory automation in Japan. Past, present and the future. *Clin Chim Acta* 1998; 278: 217–27.
17. Felder RA; Savory J, Margrey KS, Holman JW, Boyd JC. Development of a robotic near patient testing laboratory. *Arch Pathol Lab Med* 1995; 119: 948–51.
18. Živanović A, Davies BL. A robotic system for blood sampling. *IEEE Trans Inf Technol Biomed* 2000; 4 (1): 8–14.
19. Cadell TE, Samsoundar J. Apparatus and method for rapid spectrophotometric pre-test screen of specimen for a blood analyzer. U.S. patent 6195158, Feb 28, 2001.
20. Howanitz PJ, Sunseri DA, Love LA, Lohr A. Adapting mobile robotic technology to intralaboratory specimen transport. *Arch Pathol Lab Med* 1996; 120: 944–50.
21. Vogt W, Braun SL, Hanssmann F, Liebl F, Berchtold G, Blaschke H, et al. Realistic modeling of clinical laboratory operation by computer simulation. *Clin Chem* 1994; 40: 922–8.
22. Burnett D. ISO 15189:2003 – a practical tool for the management of quality in the medical laboratory. *Jugoslav Med Biohem* 2005; 24 (3): 193–200.

*Rad primljen: 18. 05. 2005*

*Prihvaćen za štampu: 30. 05. 2005*