

DELO Z BIOLOŠKIMI VZORCI NAVODILA IN DNEVNIKI ZA VAJE



Univerzitetni študijski program Laboratorijska biomedicina

1. letnik

Tijana Markovič, Lara Smrdel, Dunja Urbančič, Irena Prodan-Žitnik

Ljubljana, 2024

Naslov: Navodila in dnevniki za vaje Delo z biološkimi vzorci

Avtorji: asist. dr. Tijana Markovič, asist. Lara Smrdel, asist. dr. Dunja Urbančič, asist. dr. Irena Prodan-Žitnik

Uredila: asist. dr. Tijana Markovič

Recenzent: izr. prof. dr. Nataša Karas Kuželički

Slika naslovnice: izr. prof. dr. Nataša Karas Kuželički. Slika je bila ustvarjena z orodjem Bing Image Creator.

Izdala: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za klinično biokemijo

Kraj in leto izida: Ljubljana, 2024

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

COBISS.SI-ID 206212099

ISBN 978-961-6378-99-4 (PDF)

VSEBINA

1. ISKANJE IN NAVAJANJE STROKOVNE LITERATURE	1
2. OGLED LABORATORIJA	13
3. UVOD V LABORATORIJSKE VAJE	15
4. ODVZEM IN OSNOVNA ANALIZA URINA	23
5. ODVZEM KAPILARNE KRVI	34
6. PRIPRAVA KRVNIH RAZMAZOV	39
7. ODVZEM VENSKE KRVI	44
8. ODVZEM NOSNO-ŽRELNEGA BRISA IN VZORCA SLINE	54

ISKANJE IN NAVAJANJE STROKOVNE LITERATURE

Asist. dr. Tijana Marković, mag. farm.

Iskanje relevantnih, točnih in najnovejših znanstvenih in strokovnih informacij je ključnega pomena za študente in strokovnjake s področja laboratorijske biomedicine. Sodobne tehnologije in orodja omogočajo lažji dostop do raziskav, člankov in virov, ki so bistveni za razumevanje in razvoj področja. Pravilna uporaba informacijskih platform, kritična ocena virov ter skrbno izbrana in citirana literatura bodo okrepili vašo študijsko pot in prispevali k vašemu strokovnemu razvoju.

V tem poglavju bomo raziskali, kako pristopiti k iskanju strokovne literature ter kako kritično ocenjevati in izbrati vire za uporabo pri študiju laboratorijske biomedicine.

1. Izbira ustreznih iskalnikov znanstvene literature in baz podatkov

Preden začnemo iskati literaturo, je pomembno, da izberemo prave informacijske platforme. Ne glede na to, ali uporabljamo univerzitetno knjižnico, spletne baze podatkov ali specializirane zbirke, je pomembno, da izberemo tiste, ki so najbolj primerne za področje laboratorijske biomedicine. Mednje sodijo:

- PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>;
- ScienceDirect: <https://www.sciencedirect.com/>;
- Google Scholar: <https://scholar.google.com/>

Iskalniki znanstvene literature in podatkov- primer: Pubmed

PubMed je eno izmed najbolj priznanih in uporabljenih informacijskih platform za iskanje biomedicinske literature. Tukaj je zbranih nekaj ključnih informacij za uspešno uporabo.

Na domači strani PubMed-a (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) se nahaja **iskalna vrstica**. Vanjo vpišemo ključne besede, povezane z iskano temo. Za bolj obsežno iskanje lahko uporabimo sinonime in različne izraze (Slika 1). Na vrhu strani se nahaja gumb za **napredno iskanje** (angl. *advanced*). Uporabimo lahko različne filtre kot je npr. **vrsta publikacij** (angl. *article type*) na levi strani, kjer lahko označimo sistematični pregledni članek, meta-analizo, pregledni članek, klinično študijo ipd.

PubMed.gov

laboratory medicine

Advanced Create alert Create RSS

Sorted by: Most recent

692,472 results

MY NCBI FILTERS

RESULTS BY YEAR

1888 2022

TEXT AVAILABILITY

Abstract

Free full text

Full text

ARTICLE ATTRIBUTE

Associated data

ARTICLE TYPE

Books and Documents

Clinical Trial

Meta-Analysis

Randomized Controlled Trial

Review

Systematic Review

1 ☐ **Evaluation and Management of Acute Myelopathy.**
Sechi E, Flanagan EP.
Cite Semin Neurol. 2021 Oct;41(5):511-529. doi: 10.1055/s-0041-1733792. Epub 2021 Oct 7.
PMID: 34619778

2 ☐ **Pathology Residents as Testing Personnel in the Hematology Laboratory.**
Cotta CV, Ondrejka SL, Nakashima MO, Theil KS.
Cite Arch Pathol Lab Med. 2021 Oct 7. doi: 10.5858/arpa.2020-0630-OA. Online ahead of print.
PMID: 34619751
.: To describe the development of EPAs for peripheral blood and body fluid review in compliance with Clinical Laboratory Improvement Amendments and College of American Pathologists personnel and testing requirements. To examine the impact of EPA implementation on the work ...

3 ☐ **68Ga-FAPI and 18F-PET/CT Images in Intestinal Tuberculosis.**
Zheng J, Lin K, Zheng S, Yao S, Miao W.
Cite Clin Nucl Med. 2021 Oct 4. doi: 10.1097/RLU.0000000000003917. Online ahead of print.
PMID: 34619704

4 ☐ **Prognostic Value of FDG PET/CT in Patients With Neuroendocrine Carcinoma of the Uterine Cervix.**
Jiang Y, Hou G, Li F, Zhu Z, Cheng W.
Cite Clin Nucl Med. 2021 Oct 4. doi: 10.1097/RLU.0000000000003909. Online ahead of print.
PMID: 34619703

5 ☐ **Corrigendum to "Recombinant Receptor Binding Domain Protein Induces Partial Protective Immunity in Rhesus Macaques Against Middle East Respiratory**

Slika 1. Primer uporabe iskalnika znanstvene literature in podatkov Pubmed. Prirejeno po: (1).

2. Uporaba ključnih iskalnih poizvedb

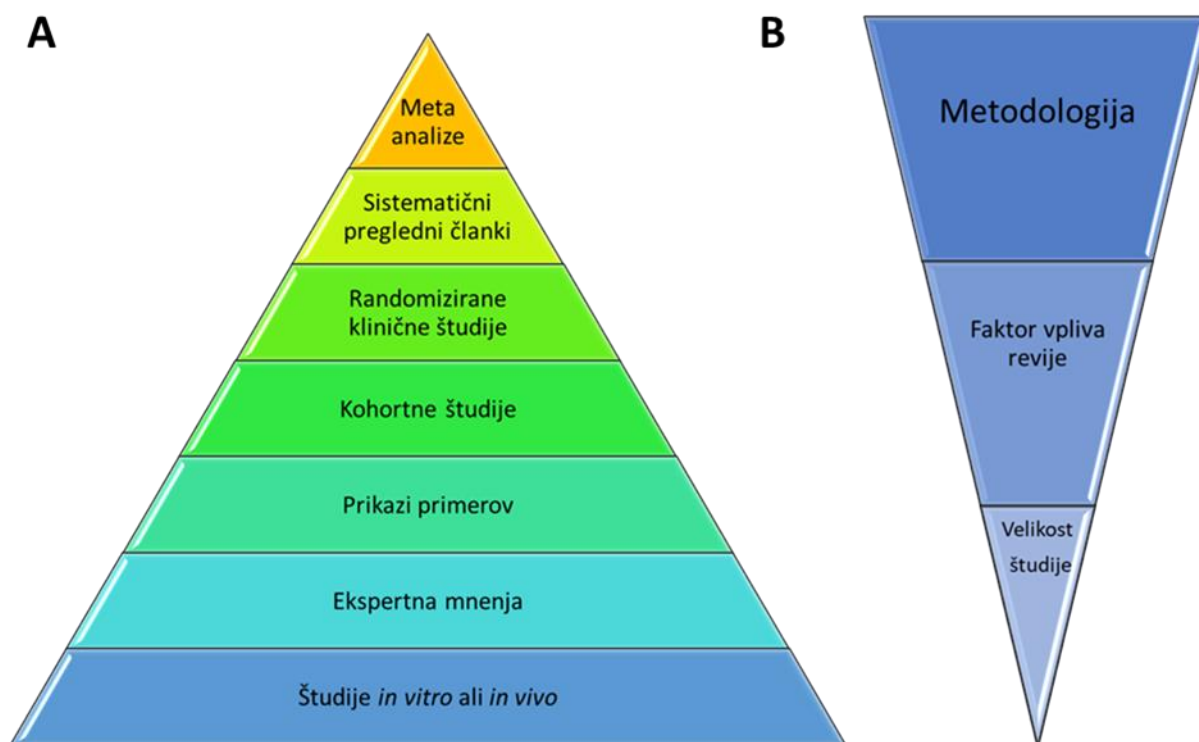
Ključne iskalne poizvedbe so bistvene za učinkovito iskanje literature. Oblikujemo jasne in specifične ključne besede, ki opisujejo temo, ki jo preučujemo. Uporabimo lahko sinonime in različne izraze za povečanje možnosti identifikacije relevantnih virov. Na primer, če nas zanima diabetes, lahko vpišemo "diabetes mellitus," "type 2 diabetes," "insulin resistance" ipd. Pri tem pazimo na uporabo operatorjev za združevanje, izključevanje in natančno ujemanje besed (and, or, not).

3. Ocena kvalitete virov

Med iskanjem smo pogosto soočeni z velikim številom člankov in virov. Pomembno je, da kritično ocenimo kvaliteto teh virov. Ocenimo revijo, v kateri je članek objavljen, metodologijo raziskave in morebitne konflikte interesov. Pri oceni revije si lahko pomagamo s **faktorjem vpliva revije** (angl. *impact factor*) ter **piramido hierarhije znanstvenih dokazov** (Slika 2).

Piramida hierarhije znanstvenih dokazov

Piramida hierarhije znanstvenih dokazov je konceptualni model, ki prikazuje različne vrste raziskav in dokazov glede na njihovo zanesljivost in metodološko rigoroznost (2). Najvišje v piramidi hierarhije znanstvenih dokazov so meta-analize in sistematični pregledni članki, sledijo randomizirane klinične ter kohortne študije. Nižje v piramidi znanstvenih dokazov so prikazi primerov (angl. *case reports*), ekspertna mnenja in študije na živalih *in vivo* ter na celičnih in tkivnih kulturah *in vitro*.



Slika 2: Kritično ovrednotenje virov in literature s pomočjo (A) piramide znanstvenih dokazov in (B) obsežnosti in ustreznosti uporabljene metodologije, faktorja vpliva revije in velikosti študije. Povzeto po (2, 3).

Piramida hierarhije znanstvenih dokazov običajno vključuje naslednje ravni (2, 3):

- Sistematični pregledni članki in meta-analize: so študije, ki združujejo rezultate več raziskav na določeno temo. Uporabljajo stroge metode za iskanje, izbor in analizo literature, kar omogoča celovit pregled in ovrednotenje razpoložljivih podatkov.
- Randomizirane klinične študije: so eksperimentalne študije, kjer so posamezni udeleženci naključno razdeljeni v preučevane skupine. Preučujejo učinkovitost in varnost določenega zdravljenja.
- Kohortne študije: spremljajo skupine ljudi skozi čas in preučujejo, kako izpostavljenost določenim dejavnikom vpliva na razvoj bolezni ali izid zdravljenja. Te študije so lahko retrospektivne ali prospektivne. Retrospektivna študija preučuje že obstoječe podatke iz preteklosti po tem ko se je neko stanje ali bolezen pri preiskovancu že razvilo. Prospektivna

študija pa sledi posameznikom od začetka študije (pred nastankom stanja ali bolezni) v prihodnost, ter beleži morebitno prisotnost preiskovanjega stanja ali bolezni.

- Opis primera: poroča o posameznem specifičnem kliničnem primeru ali redki bolezni.
- Ekspertno mnenje: je znanstveno mnenje ali ocena, ki jo poda strokovnjak na določenem področju glede na njegovo izkušnjo, znanje in strokovnost. Temelji na širokem razumevanju in dolgoletni praksi ter ni nujno podprto s formalno raziskavo.
- Študije *in vitro* ter *in vivo*: Te publikacije imajo ključno vlogo pri raziskovanju bioloških procesov, razumevanju učinkov zdravil ter prispevajo k razvoju medicinske znanosti. V *in vitro* študijah se preučujejo celice, tkiva ali biokemične procese. Primeri *in vitro* študij vključujejo raziskave o interakcijah med molekulami, preiskovanje učinkov zdravil na celični ravni in razumevanje bioloških procesov. *In vivo* študije se izvajajo na živih organizmih. Primeri *in vivo* študij vključujejo preučevanje učinkov določenih spojin, zdravil ali terapevtskih pristopov v kompleksnih bioloških sistemih.

Piramida hierarhije znanstvenih dokazov ponazarja, da so bolj rigorozne in kontrolirane raziskave na vrhu piramide bolj zanesljive pri oblikovanju trdnih znanstvenih zaključkov. Vsekakor pa tudi druge študije pomembno prispevajo k razumevanju določene teme. Pri interpretaciji znanstvenih informacij je ključno upoštevati kontekst, metodologijo in cilje posamezne študije.

4. Branje in izbor strokovne literature

Ko najdemo ustrezne vire, se posvetimo branju. Upoštevamo namen branja – ali iščemo osnovne informacije, podrobne metode ali rezultate? Izluščimo ključne točke, ki so povezane z našo temo ter jih shranimo za kasnejšo uporabo pri pisanju naloge ali študiju. Pri izbiri literature smo selektivni in se osredotočimo na tiste vire, ki najbolje podpirajo temo naše raziskave ali naloge (4, 5).

5. Citiranje in reference

Pri pisanju znanstvenega ali strokovnega dela je ključno, da pravilno citiramo vire in uporabljamo ustrezne reference. Upoštevamo uveljavljene standarde citiranja (npr. APA, MLA) glede na zahteve fakultete ali revije, v kateri nameravamo objaviti svoje delo. Pomembno je povzemanje in citiranje izvirnih virov informacij. Vsebina naj temelji na aktualnih znanstvenih spoznanjih, smernicah in priporočilih (4, 5). Pri citiranju in urejanju literature si lahko pomagamo z urejevalniki literature kot so Zotero, EndNote in Mendeley.

Urejevalniki literature - primer: Zotero

Program Zotero (<https://www.zotero.org/>) omogoča učinkovito upravljanje z znanstveno literaturo in viri. Omogoča enostavno shranjevanje in organiziranje različnih znanstvenih

člankov, revij, knjig in drugih virov (npr. internetnih strani), ki jih potrebujemo pri študiju ali pisanju seminarskih nalog.

Funkcija samodejnega beleženja omogoča hitro in natančno pridobivanje informacij o virih, kar olajša citiranje in ustvarjanje seznamov virov v pravilnih citatnih slogih. Zotero omogoča tudi **sodelovanje** med študenti pri delu na skupnih projektih, saj lahko delimo svoje knjižnice virov in s tem olajšamo skupinsko delo pri raziskovalnih in seminarskih nalogah. Funkcija označevanja in iskanja omogoča hitro iskanje specifičnih informacij v shranjenih virih. Zotero ponuja tudi možnost ustvarjanja in **urejanja citatov ter bibliografij** v različnih slogih, ki jih zahtevajo posamezne revije.

6. Spremljanje novih raziskav

Področje laboratorijske biomedicine je dinamično. Nenehno se pojavljajo nove raziskave in spoznanja. Redno spremljanje novih izsledkov raziskav je tako ključnega pomena.

Tukaj so zbrani nekateri pomembni viri informacij in povezave do internetnih strani organizaciji in združenj (3) s širšega področja laboratorijske biomedicine in sorodnih področij (dostopano: 11.5.2023):

Strokovna združenja in društva – tuja in slovenska – npr:

- IFCC - The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: <https://ifcc.org/>
- EFLM - European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine:
<https://www.eflm.eu/site/page/a/1049>
- SZKKLM - Slovensko združenje za klinično kemijo in laboratorijsko biomedicino: <https://www.szkkml.si/en>
- NIJZ – Nacionalni inštitut za javno zdravje: <https://www.nijz.si/>
- WHO - Svetovna zdravstvena organizacija; World Health Organization: <https://www.who.int/>
- Združenja bolnikov – tuja in slovenska - npr:
 - Leukemia and Lymphoma Society; <https://www.lls.org/>
 - Zveza društev diabetikov Slovenije; <https://www.diabetes-zveza.si/>
- Baze podatkov kliničnih študij:
 - <https://www.clinicaltrials.gov/>
 - <https://www.clinicaltrialsregister.eu/>
- ECDC - Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni; European Centre for Disease Prevention and Control: <https://www.ecdc.europa.eu/en>
- CDC – Center za obvladovanje in preprečevanje bolezni; Center for disease control and prevention: <https://www.cdc.gov/>
- FDA – Ameriška agencija za hrano in zdravila; U.S. Food and Drug Administration: <https://www.fda.gov/>
- EMA – Evropska agencija za zdravila; European Medicines Agency: <https://www.ema.europa.eu/en>

7. Umetna inteligenca (*angl. Artificial intelligence; AI*)

Umetno inteligenco (UI) lahko opredelimo kot zmožnost stroja za opravljanje nalog, ki jih sicer izvaja človek s pomočjo inteligence. UI lahko izvaja naloge kot so mišljenje, učenje, načrtovanje, sklepanje in kreativnost. V okviru študija na Fakulteti za farmacijo, UL si prizadevamo za odgovorno uporabo UI v okviru študija in znanosti. Pri tem poudarjamo potrebo po etični, transparentni in varni rabi UI ter opozarjamo na morebitne pasti in nevarnosti, ki jih lahko prinese njena uporaba. Zavzemamo se za razpravo o etičnih vprašanjih povezanih z uporabo UI ter za uveljavljanje visokih standardov (6).

Priporočila za uporabo UI na Univerzi v Ljubljani vključujejo upoštevanje transparentnosti, odgovornosti in preverjanja pristnosti generiranih informacij (6). V primeru uporabe UI kot orodja za podporo učenju in raziskovanju je pomembno, da smo pozorni na morebitne napake in pristranskost ter da vedno preverimo pristnost informacij. Pomembno je, da ohranjamo kritičen pristop in skrbno preverjamo generirane rezultate, saj UI ni brez napak in lahko proizvede neresnične informacije (t. i. halucinacija UI) ter pristranske ali diskriminatorne informacije. Poleg tega je ključno, da jasno navedemo, kdaj in kako smo uporabili UI (npr. pri pisanju seminarskih nalog) ter spoštujemo etične standarde akademske integritete. Neustrezna uporaba UI je nedopustna, vključno s kopiranjem besedil, navajanjem besedila brez navedbe uporabe UI ter uporabo UI v vseh primerih, ko je to prepovedano v skladu z navodili učitelja (6).

Tukaj so zbrana nekatera orodja UI (7) in povezave do orodij (dostopano: 20.2.2024):

- **Consensus:** <https://consensus.app/>
- **Elicit:** <https://elicit.com/>
- **Scite:** <https://scite.ai/>
- **Research Rabbit:** <https://www.researchrabbit.ai/>
- **ChatPDF:** <https://www.chatpdf.com/>

Pri pisanju seminarske naloge upoštevamo Priporočila Univerze v Ljubljani pri uporabi umetne inteligence (6).

Navodila za pisanje seminarske naloge

Vaje pri premetu Delo z biološkimi vzorci vključujejo tudi izdelavo in predstavitev seminarske naloge na izbrano temo. Vsebina seminarske naloge naj temelji na aktualnih znanstvenih spoznanjih, smernicah in priporočilih. Obsega naj 10 strani vključno s slikami, tabelami in literaturo. Pri pisanju upoštevamo smiselne določbe Fakultete za farmacijo za pisanje diplomskih del kot so npr uporaba kazala, navajanje literature, oblikovanje preglednic in slik ([4](#)).

Seminarsko nalogo oblikujemo tako, da vsebuje: Naslov naloge, avtorje naloge, povzetek (do 250 besed), ključne besede, uvod, vsebino oblikovano v ustrezna poglavja in podpoglavja, zaključek ter seznam virov in literature.

Vsebina seminarske naloge

Pri pisanju je potrebno upoštevati, da je glavni poudarek naše naloge obravnava **biološkega vzorca**, saj seminarsko nalogo opravljamo pri predmetu Delo z biološkimi vzorci.

Seminarska naloga naj obsega naslednje teme:

- Opis biološkega vzorca
- Namen odvzema biološkega vzorca
- Metode za odvzem biološkega vzorca
- Analize, za katere se uporablja biološki vzorec
- Najpogostejše bolezni, ki jih z odvzemom biološkega vzorca ugotavljamo
- Literatura in primerno citiranje v tekstu

Slog pisanja

Slog pisanja naj bo jedrnat, informativen in strokoven, stavki naj bodo kratki in jasni. Uporaba tujk se svetuje, kadar ni ustrezne slovenske besede oziroma, če je raba tujke v našem jeziku že ustaljena ([4](#)). Za prevod pravih slovenskih strokovnih izrazov uporabljamo ustrezne slovarje npr. Slovar izbranih izrazov iz biokemije in molekularne biologije ([8](#)).

V seminarsko nalogo je vključimo tudi 5 **ključnih besed**. Pri rabi **okrajšav** pa upoštevamo pravilo, da okrajšavo prvič v besedilu izpišemo in navedemo v oklepaju, nato uporabljamo okrajšavo npr. prvič v besedilu napišemo »C-reaktivni protein (CRP)«, nato uporabljamo kratico »CRP«. Okrajšave uporabljamo le za besede, ki se v besedilu pojavljajo pogosto, sicer postane besedilo nepregledno ([5](#)).

Preglednice in slike

Uporaba preglednic in slik pripomore k razumevanju in preglednosti vsebine. Zaželeno je, da v seminarsko nalogo vključite vsaj 3 slike in 1 preglednico. Svetujemo vam, da slike izdelate z uporabo programa Biorender (<https://www.biorender.com/>) ali Servier Medical Art

(<https://smart.servier.com/>). Pomembno je, da so slike pregledne ter usklajene z besedilom. Pod sliko navedemo, s katerim programom je bila ustvarjena.

Neposredne kopije slik iz knjig in člankov v seminarski nalogi niso dovoljene brez dovoljenja avtorjev. Zato svetujemo ustrezno prilagoditev slike ali sheme, besedilo na sliki naj bo v slovenščini, vir pa ustrezno citiramo. Pod sliko npr. zapišemo: »Povzeto po: (4)«.

Preglednice in slike v besedilu oštevilčimo ter navedemo naslov, ki povzema vsebino (4). V besedilo so umeščene neposredno za besedilom, na katerega se preglednica ali slika nanaša v oklepaju npr. (Slika 3). Naslov preglednice pišemo **nad preglednico** z rimskimi številkami npr. (Preglednica II), naslov slike pa pišemo **pod sliko** npr. (Slika 2).

Viri in literatura

Vsebina naj temelji na aktualnih znanstvenih spoznanjih, smernicah in priporočilih. Navajamo le vire in literaturo, ki smo jo prebrali in uporabili pri pisanju seminarske naloge (5). Pomembno je, da povzemamo in navajamo **izvirne vire informacij**. Navajanje virov in literature ne pomeni, da lahko celoten stavek prepíšemo in nato navedemo vir, temveč da s tem povzamemo vir informacije, besedilo moramo vedno napisati sami. Vire in literaturo navajamo v besedilu z arabsko številko v oklepaju na koncu stavka (npr.: (1)).

Vire in literaturo navedemo na koncu seminarske naloge v enakem **zaporedju**, kot se pojavljajo v besedilu seminarske naloge.

Primeri navajanja virov in literature:

- Navajanje knjig z enim ali več avtorji: avtor(ji), naslov dela, izdaja, založba, kraj izdaje, leto izdaje, strani.
Primer: Rifai N: Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Elsevier Health Sciences, St. Louis, 2017: 1888.
- Navajanje člankov: avtor(ji) članka, naslov članka, naslov revije, volumen revije, leto izdaje revije, strani od - do.
Primer: Karas Kuželički N, Šmid A, Tamm R, Metspalu A, Mlinarič-Raščan I: From pharmacogenetics to pharmacometabolomics: SAM modulates TPMT activity. Pharmacogenomics. 2014; 15, 11: 1437-1449.
- Navajanje internetnih virov: naziv spletne strani, URL naslov, datum zadnjega dostopanja
- Primer: The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, <https://ifcc.org/>, 6.9.2023

Seminarsko nalogo **oddamo pravočasno** do roka, določenega za oddajo (npr. vsaj 1 teden pred ustno predstavitvijo).

Predstavitev seminarske naloge:

Predstavitev seminarske naloge je pomemben del študijskega procesa, saj omogoča, da svoje delo in ugotovitve delite s sošolci. Priprava na uspešno predstavitev seminarske naloge zahteva nekaj truda in načrtovanja. Najprej je potrebno temeljito razumeti vsebino seminarske naloge. Preberemo jo večkrat, da si ustvarimo jasno predstav o vsebini, ciljih in sporočilu. Identificiramo ključne točke ali sporočila, ki jih želimo predstaviti. Omejimo se na nekaj bistvenih informacij, za katere želimo, da jih občinstvo razume. Pri pripravi predstavitve upoštevamo časovni okvir, za predstavitev seminarske naloge je na voljo 10 -15 minut. Temu primerno prilagodimo tudi število drsnic (npr 10-15).

Predstavitev naj obsega:

- Naslov
- Uvod: Predstavimo sebe in svojo nalogo ter razložimo, zakaj je pomembna.
- Vsebina seminarske naloge (Opis biološkega vzorca; namen odvzema; metode za odvzem biološkega vzorca; analize, ki jih v biološkem vzorcu opravljamo; najpogostejše bolezni, ki jih z odvzemom biološkega vzorca diagnosticiramo).
- Diskusija: Razmislimo o pomenu svojih ugotovitev in njihovem vplivu.
- Zaključek: Povzememoi glavne točke predstavitve.
- Vprašanja: na koncu predstavitve planiramo nekaj časa za vprašanja in povratne informacije (npr 10 minut za predstavitev in 5 minut za vprašanja).

Upoštevamo osnovna pravila za pripravo prezentacij v programu **PowerPoint**. Vsaka drsnica naj bo jasna in strukturirana. Uporabimo naslove in podnaslove, da organiziramo informacije ter dodajmo vizualne elemente: slike, grafe, tabele (in videoposnetke), ki podpirajo besedilo. Uporabimo jih zmerno in zagotovimo, da so kakovostni in relevantni. Uporabimo kratke stavke in ključne besede, predstavitev ni namenjena navajanju celotnih odstavkov besedila. Omejimo se na bistvene informacije, besedilo pa naj bo berljivo in v ustrezni velikosti pisave. Ohranimo dosledno barvno shemo in slog prezentacije ter barve, ki so berljive in kontrastne. Za izboljšanje prezentacije lahko uporabimo animacije in prehode med diapozitivi, vendar smo pri tem zmerni, da ne postanejo moteči (5).

Pri pripravi na predstavitev upoštevamo tudi čas, ki ga potrebujemo za vajo govornega nastopa. **Večkratna vaja ustne predstavitve** nam bo pomagala, da bomo seminarsko nalogo predstavili bolj samozavestno, lažje si bomo zapomnili ključne točke in izboljšali način govora. Predstavitev naj bo jasna, zanimiva in konsistentna. Besedila z drsnic **ne beremo**, ampak uporabimo prezentacijo kot pomoč za sošolce. Uporabljamo enostaven in strokoven jezik, izogibamo pa se preveč tehničnim izrazom, razen če so primerni za našo ciljno publiko. Vaja je ključ do uspeha, zato večkrat vadimo svojo predstavitev pred samim nastopom. Svetuje se, da celotno predstavitev 10 x uspešno izvedemo, preden jo predstavimo.

Pripravimo se na morebitna vprašanja, razmislimo o možnih vprašanjih, ki bi se lahko pojavila in pripravimo odgovore nanje. Skrbna priprava in vaja sta ključni za uspešno predstavitev seminarske naloge.

Pred začetkom termina (npr. šolske ure), ko bo predstavitev potekala, **shranimo** predstavitev na računalnik v predavalnici. **Preverimo**, ali bo oprema za predstavitev (računalnik, projektor, zaslon, mikrofoni itd.) delovala brez težav. Preverimo celotno prezentacijo, da so vse drsnice pravilno postavljene in da vse deluje kot pričakovano.

Med predstavitvijo govorimo jasno in počasi ter upoštevamo časovni okvir za predstavitev. Predstavitve je tudi **priložnost za deljenje svojega znanja**, zato se prepustimo izkušnji in uživamo v njej. Poskrbimo za interakcijo z občinstvom tako, da postavljamo vprašanja in povabimo k razpravi. Spodbudimo sošolce, da postavijo vprašanja in se vključijo v razpravo po predstavitvi. To lahko pomaga pri boljšem razumevanju teme ter pridobimo povratne informacije od sošolcev in asistenta/profesorja, kar nam bo pomagalo izboljšati spretnosti predstavljanja.

Vključimo se tudi v razpravo po predstavitev vaših sošolcev. Predstavitve lahko sošolci med seboj ocenimo in tako podamo povratno informacijo. Upoštevamo lahko naslednja **merila za ocenjevanje**: vsebino predstavitve, jasnost predstavitve, govorni nastop, uporabo virov in kakovost vizualnih pripomočkov.

Zaključek

Iskanje relevantnih, točnih in najnovejših znanstvenih in strokovnih informacij je ključnega pomena za študente laboratorijske biomedicine. Med iskanjem virov se pogosto soočimo s številnimi strokovnimi članki in viri, izjemnega pomena pa je, da se naučimo kritično oceniti kvaliteto virov in literature. Področje laboratorijske biomedicine je dinamično, nenehno se pojavljajo nove raziskave in spoznanja, zato je redno spremljanje novih izsledkov raziskav izjemno pomembno.

Želimo vam veliko pridobljenega znanja in uspešno pisanje in predstavljanje seminarskih in raziskovalnih nalog.

Praktična naloga

Rešite praktično nalogo in odgovorite na vprašanja.

1. Poiščite pregledni članek, ki obravnava vašo tematiko. Uporabite iskalnik PubMed.
2. V kateri reviji in številki je bil članek objavljen?
3. Dostopite do članka
4. Koliko virov je članek navedel?
5. Koliko avtorjev je sodelovalo pri pisanju?
6. Kje so zaposleni in kako jih lahko kontaktirate?
7. Najdite članke, ki obravnavajo podobno tematiko
8. Kakšen je faktor vpliva revije v katerem je bil članek objavljen?
9. Preberite članek in njegovo vsebino opišite v seminarski nalogi

Seminarsko nalogo oddajte pravočasno v MS Teams (Assignments) do roka za oddajo.

Video vsebine

- *Navajanje virov in literature ter uporaba programa Zotero:*
https://www.youtube.com/watch?v=-l_hfvpeN0g
- *How to Present Better with PowerPoint Presentation Coach:*
<https://www.youtube.com/watch?v=GZWT1VxTxAA>
- *The surprising secret to speaking with confidence, TEDxBrixton*
<https://www.youtube.com/watch?v=a2MR5XbJtXU>

Viri

1. Pubmed, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>; dostopano: 21.2.2024
2. Rahul M, Tewari N, Mathur V, Goel S, Jain G. Evidence mapping and quality analysis of published dental literature on COVID-19 – A systematic review. *Natl J Maxillofac Surg* 2021; 12 (2): 139-161.
3. Gobec M, Omersel J, Bratkovič T, Cedilnik-Gorup E, Učakar V, Fafangel M, Kos M, Paulino E, Messerli M, Čebren Lipovec N, Markovič T, Vrščaj L A, Jurković Mlakar, S, Karas Kuželički N, Kerec Kos M, Nabergoj Makovec Urška. Izzivi, priložnosti in izkušnje cepljenja v lekarniški dejavnosti : strokovno izpopolnjevanje s področja farmacije. 2022; 107.
4. https://www.ffa.uni-lj.si/docs/default-source/referat/navodila/navodila_za_izdelavo_in_pisanje_diplomske_magistrske_naloge.pdf?sfvrsn=2; dostopano: 21.2.2024
5. https://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/Dekanat/Studij/2016_Smernice_za_seminar.pdf; dostopano: 21.2.2024
6. https://www.uni-lj.si/o_univerzi_v_ljubljani/organizacija__pravilniki_in_porocila/predpisi_statut_ul_in_pravilniki/2023092013503987/ ; dostopano: 20.2.2024.
7. <https://www.euronews.com/next/2024/01/20/best-ai-tools-academic-research-chatgpt-consensus-chatpdf-elicite-research-rabbit-scite>; dostopano: 20.2.2024
8. http://www.sbd.si/datoteke/dokumenti/SBD_BiokemijskiSlovar2012a.pdf; dostopano: 20.2.2024

OGLED LABORATORIJA

Asist. dr. Tijana Marković, mag. farm.

V okviru laboratorijskih vaj si bomo ogledali diagnostični laboratorij.

Poglavitni cilji ogleda laboratorija so:

- Spoznavanje organizacije, delovanja in opreme laboratorijskega okolja.
- Razumevanje temeljnih postopkov pri pripravi bioloških vzorcev in izvajanju preiskav.
- Poudarek na varnostnih smernicah in upoštevanju etičnih standardov pri delu v laboratoriju.
- Spoznavanje različnih laboratorijskih metod in njihova uporaba v diagnostiki in raziskavah.

Ogled laboratorija vam bo omogočil pridobivanje praktičnih izkušenj in razumevanje dela v diagnostičnem laboratoriju.

V naslednjih video vsebinah pa boste lahko dobili še dodaten vpogled v delo v laboratoriju. V 1. delu predstavljata delo v laboratoriju zdravstvena delavca, zaposlena v diagnostičnem laboratoriju. V 2. delu si lahko ogledate delo v večjih avtomatiziranih laboratorijih.

1. del:

- Priprava na odvzem krvi: https://www.youtube.com/watch?v=xckFHH_c8sU
- Kako brati laboratorijske izvide? <https://www.youtube.com/watch?v=aYXHH-4bg6w>
- Virusne ali bakterijske okužbe: <https://www.youtube.com/watch?v=H-OUMOhmyPg>
- Hemogram: <https://www.youtube.com/watch?v=E5yxz1xJRol>
- Levkociti, povišani levkociti in levkociti v urinu: <https://www.youtube.com/watch?v=reizEozmBIs>
- Levkociti v urinu: <https://www.youtube.com/watch?v=crLUIDwa5TE>
- Hormoni v slini: <https://www.youtube.com/watch?v=qvayx5S1BXw>
- Preiskave ščitnice v diagnostičnem laboratoriju: <https://www.youtube.com/watch?v=eQ8D7S9aGh0>

2. del:

- Clinical Laboratory Science: Caring for Our Patients One Test at a Time: <https://www.youtube.com/watch?v=67u34hLQkWM>
- Medical Laboratory Technologist: <https://www.youtube.com/watch?v=124t9bcW6ms>
- The journey of blood sample: <https://www.youtube.com/watch?v=Skm4jHH0rTI>
- Inside the Mayo Clinic Diagnostic Testing Labs: https://www.youtube.com/watch?v=R0tHEJI_Y8E

- Quest Diagnostics Tucker Lab video tour:
<https://www.youtube.com/watch?v=P2eM7uK0zNg>

Praktična naloga

Oglejte si video vsebine. Izmed vsebin iz vsakega sklopa izberite eno, ki jo boste preučili. Opišite in s pomočjo sheme prikažite biološki vzorec, laboratorijsko opremo in laboratorijski material, ki se v okviru izbrane metode/laboratorija uporablja. Za pripravo shem in slik si lahko pomagata s: <https://smart.servier.com/> in/ali <https://biorender.com/>, kjer so zbrane slike bioloških vzorcev, laboratorijskega materiala in opreme.

Nalogo lahko naredite v Word-u (priporočena dolžina 1-2 strani) ali Power point-u (priporočena dolžina 2 - 4 diapozitivi).

UVOD V LABORATORIJSKE VAJE

Asist. dr. Tijana Marković, mag. farm.

VARNOST PRI DELU V BIOKEMIJSKEM LABORATORIJU

Osebna varovalna oprema

Pri delu v laboratoriju je obvezna uporaba laboratorijske halje, ki naj bo zapeta. Prav tako pri delu z biološkimi vzorci vedno uporabljamo lateksne ali nitrilne zaščitne rokavice. Kadar delamo z nevarnimi snovmi, vedno uporabljamo zaščitna očala.

Pravila v laboratoriju

- V laboratoriju je prepovedano uživanje pijače in hrane.
- Jakne in torbe pospravimo v za to namenjene omare/predale.
- Pri delu v laboratoriju je obvezna uporaba laboratorijske halje.
- Pri delu z biološkimi vzorci vedno uporabljamo lateksne ali nitrilne zaščitne rokavice.
- Pri delu z nevarnimi snovmi vedno uporabljamo digestorij.
- Po zaključenem laboratorijskem delu ustrezno pospravimo delovno površino (Slika 1).



Slika 1: Delovna površina v laboratoriju.

Pri delu v laboratoriju je potrebno upoštevati pravila, saj s tem poskrbimo za svojo varnost in za varnost vseh, ki delajo v laboratoriju. Pomembno je, da upoštevamo navodila asistenta, ki vodi laboratorijske vaje. Z namenom zagotavljanja varnosti vseh prisotnih v laboratoriju, lahko asistent študentu, ki pravil ne upošteva, prepreči nadaljnje opravljanje laboratorijskih vaj.

Piktogrami

Piktogram za nevarnost je slika na etiketi posameznih reagentov, ki vključuje opozorilno oznako in posebne barve, namenjene zagotavljanju informacij o škodi, ki jo lahko določena snov ali zmes pomeni za naše zdravje ali okolje (Slika 2, 3).



Slika 2: Reagenti, označeni s prikazanimi piktogrami, so lahko nevarni, če se z njimi ne ravna pravilno. Za zagotovitev varne uporabe si zapomnimo pomen oznak in preberemo navodila. Prirejeno po: (1)

Posamezni piktogrami in ravnanja s kemikalijami, ki so označena s piktogrami so pojasnjena v sliki 3.

Jedko 	Razlaga piktograma: Lahko je jedko za kovine, povzroča hude opekline kože in poškodbe oči. Hranimo v originalni embalaži. Nosimo zaščitne rokavice, zaščitna oblačila, zaščito za oči in obraz	Vnetljivo 	Razlaga piktograma: Lahko ali zelo vnetljivi plini, aerosoli, tekočine ali hlapi. Ne segrevamo ali pršimo proti odprtem ognju. Uporabimo orodje, ki ne povzroča isker, hranimo v tesno zaprti posodi.
Resne nevarnosti za zdravje 	Razlaga piktograma: Lahko škoduje plodnosti ali nerojenemu otroku, povzroča raka, simptome alergije ali astme, škoduje organom. Pred uporabo se seznanimo z varnostnimi ukrepi. Ne vdihavamo prahu ali dimov. Hranimo zaklenjeno. Pri respiratornih simptomih pokličemo center za zastrupitve ali zdravnika.	Akutna strupenost 	Razlaga piktograma: Pri zaužitju, vdihavanju ali v stiku s kožo je lahko zdravju škodljivo ali smrtno. Ravnamo previdno. Ne jemo, pijemo ali kadimo med uporabo. Uporabljamo zaščitno opremo. Preprečimo stik s kožo in z očmi. Hranimo zaklenjeno.

Slika 3. Prikaz izbranih piktogramov in razlaga. Prirejeno po (2)

PIPETIRANJE

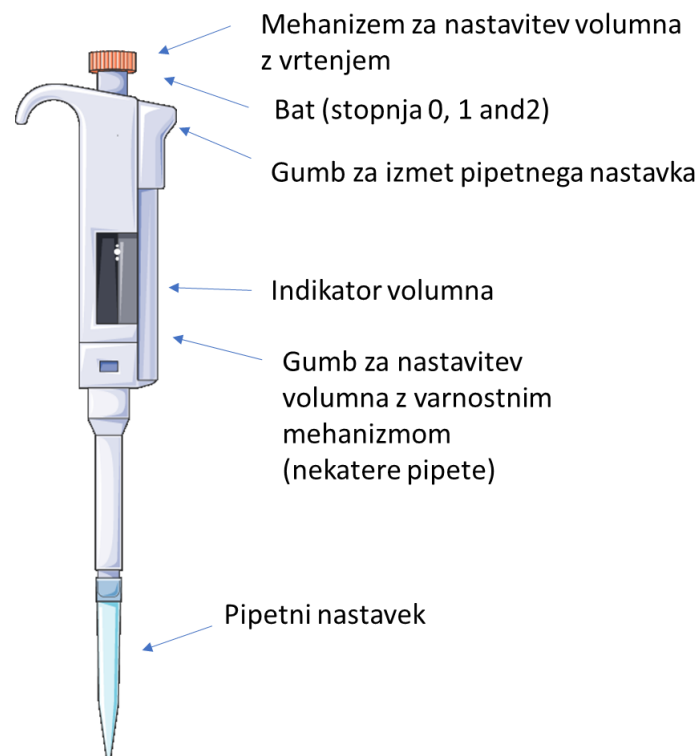
Pipete

Pipete se uporabljajo za natančno odmerjanje volumnov raztopin. Poznamo polnilne, merilne pipete in birete. Najprej moramo izbrati ustrezno pipeto. Za pipetiranje uporabljamo pipete, ki se med seboj razlikujejo glede na volumen, ki ga želimo pipetirati. Najprej poiščemo pipeto, ki ustreza volumnu, ki ga želimo pipetirati. Vsaka pipeta ima predpisan ustrezen volumen, na katerega je kalibrirana in se lahko uporablja le za pipetiranje znotraj merilnega območja pipete.

Običajna merilna območja pipet so:

- 0,5 μ L – 10 μ L
- 0,5 μ L – 20 μ L
- 10 μ L- 100 μ L
- 20 μ L – 200 μ L
- 100 μ L – 1000 μ L
- 1 ml -5 ml

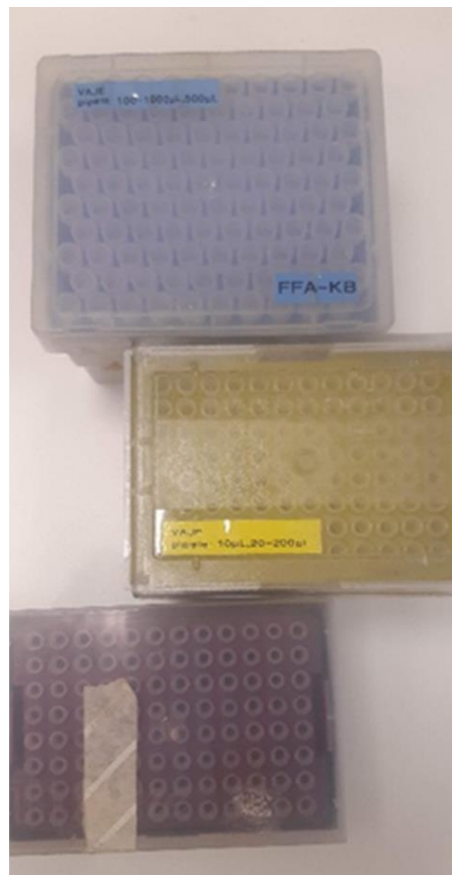
Na pipeti nastavimo ustrezen volumen, kar storimo s premikanjem gumba za nastavitev volumna (Slika 2). Gumb vrtimo dokler se v okencu ne pojavi želen volumen. Pri tem pazimo, da nikoli ne nastavimo volumna izven merilnega območja pipete, saj v tem primeru odmerjeni volumen ne bo pravilen, lahko pa tudi pokvarimo pipeto.



Slika 2: Pipeta. Shema je bila pripravljena z uporabo Servier Medical ART 3000.

Nastavki za pipete

Nastavki za pipete se med seboj razlikujejo glede na volumen, ki ga lahko pipetiramo (Slika 3). Vedno poiščemo ustrezen nastavek glede na merilno območje pipete ter preverimo, da nastavek dobro tesni. Nastavek zamenjamo vedno, ko pipetiramo drugo tekočino, da preprečimo kontaminacijo reagentov, vzorcev... Po zaključenem pipetiranju nastavek zavržemo v koš za biološke odpadke s pritiskom na gumb za odstranitev nastavka.

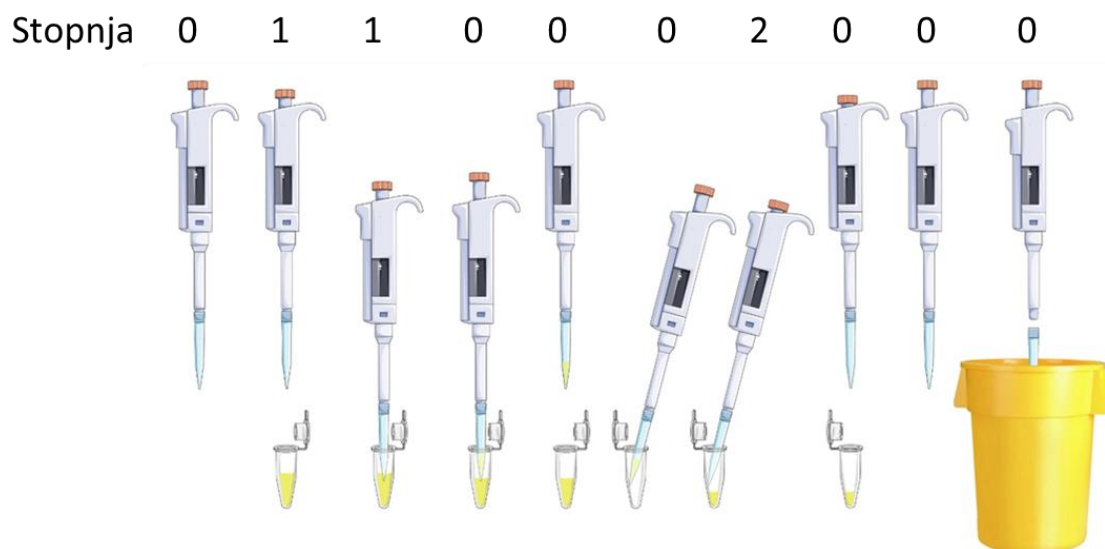


Slika 3. Stojalo za pipete z različnimi volumni in škatle v katerih hranimo nastavke za pipete.

Postopek pipetiranja

Pred začetkom pipetiranja izberemo ustrezno pipeto glede na volumen, ki ga želimo pipetirati ter nastavimo ustrezen volumen. Pipeta ima 3 stopnje (nevtralno 0, 1. in 2. stopnjo). Na pipeti preizkusimo gumb za vse 3 stopnje, da dobimo občutek za delo z izbrano pipeto. Nato izberemo ustrezen nastavek in ga namestimo na pipeto ter se prepričamo, da nastavek dobro tesni. Pipeto postavimo v vertikalni položaj nad tekočino in počasi pritisnemo gumb do stopnje 1. Nato pipeto potopimo v raztopino tako, da je konica nastavka nekaj mm pod gladino tekočine. Volumen tekočine zajamemo tako, da gumb počasi spustimo v nevtralen položaj (torej iz stopnje 1 v stopnjo 0) in počakamo vsaj 1 sekundo. Pred izpustom tekočine naslonimo nastavek na steno posode pod kotom 20°- 45°. Ko je nastavek pod kotom, počasi stisnemo gumb do stopnje 2 in počakamo vsaj 1 sekundo, da prenesemo ves volumen

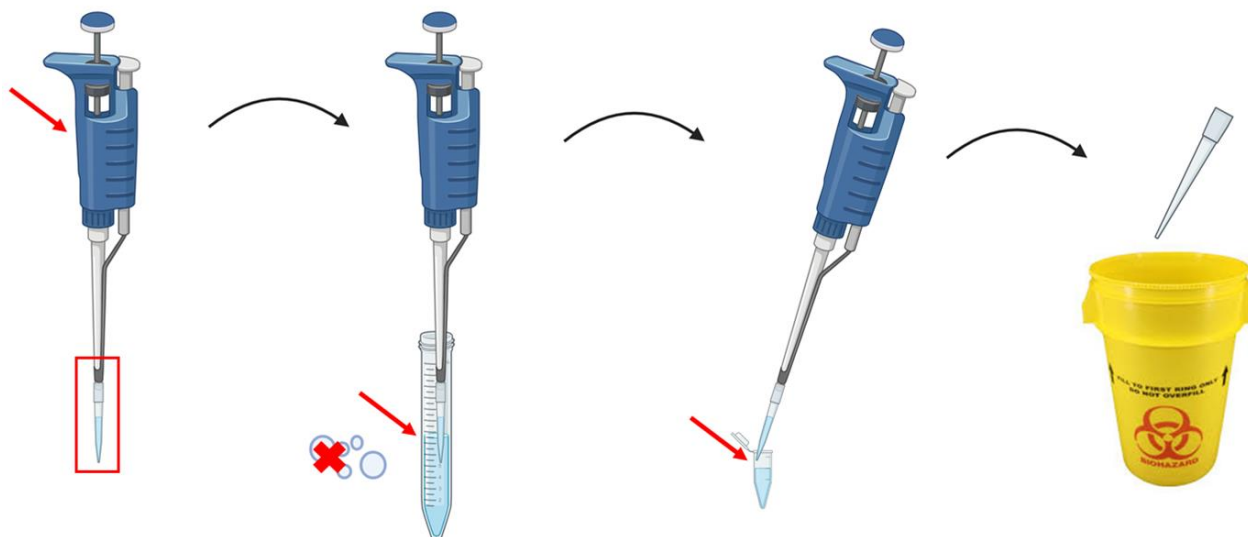
tekočine. Po končanem pipetiranju zavržemo nastavek v koš za biološke odpadke s pritiskom na gumb za odstranitev nastavka.



Slika 4. Shematski prikaz pipetiranja. Shema je bila pripravljena z uporabo Servier Medical ART 3000.

Na kaj moramo biti pozorni pri pipetiranju?

Vedno preverimo merilno območje pipete in pazimo, da pipete nikoli ne nastavimo izven merilnega območja, saj je sicer potrebna ponovna kalibracija pipete. Pred pipetiranjem preizkusimo stopnje na pipeti (0, 1, 2) s pritiskom na gumb, da dobimo občutek za posamezno pipeto. Pred vsakim pipetiranjem moramo dati na pipeto nov nastavek, da ne pride do kontaminacije reagentov in vzorcev. Preden potopimo pipeto v raztopino, se vedno prepričajmo, da smo stisnili gumb na stopnjo 1. Pomembno je, da pipete pri zajemanju vzorca ne potopimo pregloboko, ker lahko zaradi kapilarnega efekta zajamemo večji volumen. Če pa nastavka ne potopimo dovolj globoko, lahko zajamemo zračne mehurčke (Slika 5). Pipeto torej potopimo do takšne globine, kot je nujno potrebno, da ob koncu pipetiranja zaradi znižanja gladine ne bi v pipeto namesto raztopine potegnili zraka. Pomembno je tudi, da je pipeta pri zajemanju tekočine v vertikalnem položaju, saj lahko v nasprotnem primeru zajamemo napačen volumen. Pri pipetiranju gumb stisnemo počasi in nato počakamo 1 sekundo, da ne pride do nastanka mehurčkov ali razlitja tekočine. Pri izpustu moramo upoštevati, da prislonimo pipeto na steno pod kotom 20°- 45°, da zagotovimo optimalen pretok tekočine.



Slika 5. Shematski prikaz posameznih korakov, na katere moramo biti pozorni pri pipetiranju. Shema je bila pripravljena z uporabo programa BioRender.

Pogoste napake pri pipetiranju

- Nepravilno nastavljen volumen – npr. želeli smo odpipetirati 100 μL raztopine, izbrali pa smo pipeto, ki ima merilno območje 2 μL -20 μL . Volumen na pipeti smo nastavili na 10,0 (μL) - odpipetiran volumen bo tako 10 x prenizek.
- Nepravilno nameščen nastavek na pipeto - če nastavka nismo čvrsto pritrdili, lahko pade s pipete ali odpipetiramo napačen volumen.
- Vdor tekočine v pipeto - če ne držimo pipete obrnjene navzdol.
- Zajetje mehurčkov - v primeru, da ob zajetju volumna spustimo gumb iz stopnje 1 do nevtralnega položaja prehitro. Odpipetiran volumen bo napačen.
- Odvzem prevelikega volumna - če nimamo občutka za stopnje na pipeti in stisnemo gumb na stopnjo 2 namesto na stopnjo 1. Odpipetiran volumen bo napačen.

Reverzno pipetiranje

Reverzno pipetiranje uporabljamo za viskozne tekočine ter z namenom, da preprečimo nastanek mehurčkov.

Postopek reverznega pipetiranja:

1. Gumb na pipeti nastavimo na stopnjo 2, potopimo v raztopino in počasi spustimo do nevtralnega položaja 0, da zajamemo volumen tekočine.
2. Nastavek pipete naslonimo pod kotom 20°- 45° na steno vsebnika, v katerega bomo pipetirali.
3. Gumb spustimo do položaja 1 in s tem odmerimo volumen tekočine. Pomembno je, da se zavedamo, da pri reverznem načinu pipetiranja vedno ostane nekaj tekočine v nastavku.
4. Na koncu spustimo gumb do stopnje 2 in s tem preostanek tekočine v nastavku zavržemo v ustrezen vsebnik, ki ga po končanem delu zaprtega zavržemo v biološke odpadke.

Video vsebine

Oglejte si naslednje videoposnetke, ki nazorno prikažejo pravilno tehniko pipetiranja ter opozorijo na pogoste napake pri pipetiranju.

Pravilno pipetiranje: <https://www.youtube.com/watch?v=QGx490kuKjg>

<https://www.youtube.com/watch?v=OOQWsCMQuRw>

<https://www.youtube.com/watch?v=nPjt1ZUNkFQ>

Pipete: <https://www.youtube.com/watch?v=wIO4zJLR8R8>

Pogoste napake pri pipetiranju: https://www.youtube.com/watch?v=05oolv_y4Pk

Reverzno pipetiranje: <https://www.youtube.com/watch?v=1Y0U9jf5ZbI>

Viri

1. Pictograms, <https://echa.europa.eu/sl/pictograms-infographic>, dostopano: 21.2.2024
2. ECHA Regulations CLP Quiz, <https://echa.europa.eu/sl/regulations/clp/clp-quiz>; dostopano: 6.7.2022

Vprašanja

- Naštejte osebno varovalno opremo v laboratoriju.
- Preverite znanje o piktogramih v naslednjem kvizu: [Kviz o CLP - ECHA \(europa.eu\)](https://europa.eu/kviz-clp-echa)
- Opišite postopek pipetiranja.
- Katero pipeto (s kakšnim merilnim območjem) bi izbrali za pipetiranje naslednjih volumnov: 0,5 µL; 10,5 µL; 20 µL; 135 µL; 200 µL; 1000,5 µL, 4,5ml?
- Shematsko prikažite postopek pipetiranja. Označite, na kaj moramo biti pri pipetiranju pozorni.
- Naštejte 5 pogostih napak pri pipetiranju.
- Opišite postopek reverznega pipetiranja.
- Ob ogledu videovsebin izpišite 5 pomembnih ugotovitev za vsak posnetek.

ODVZEM IN OSNOVNA ANALIZA URINA

Asist. Lara Smrdel, mag. lab. biomed., Asist. dr. Irena Prodan-Žitnik, mag. farm

Uvod

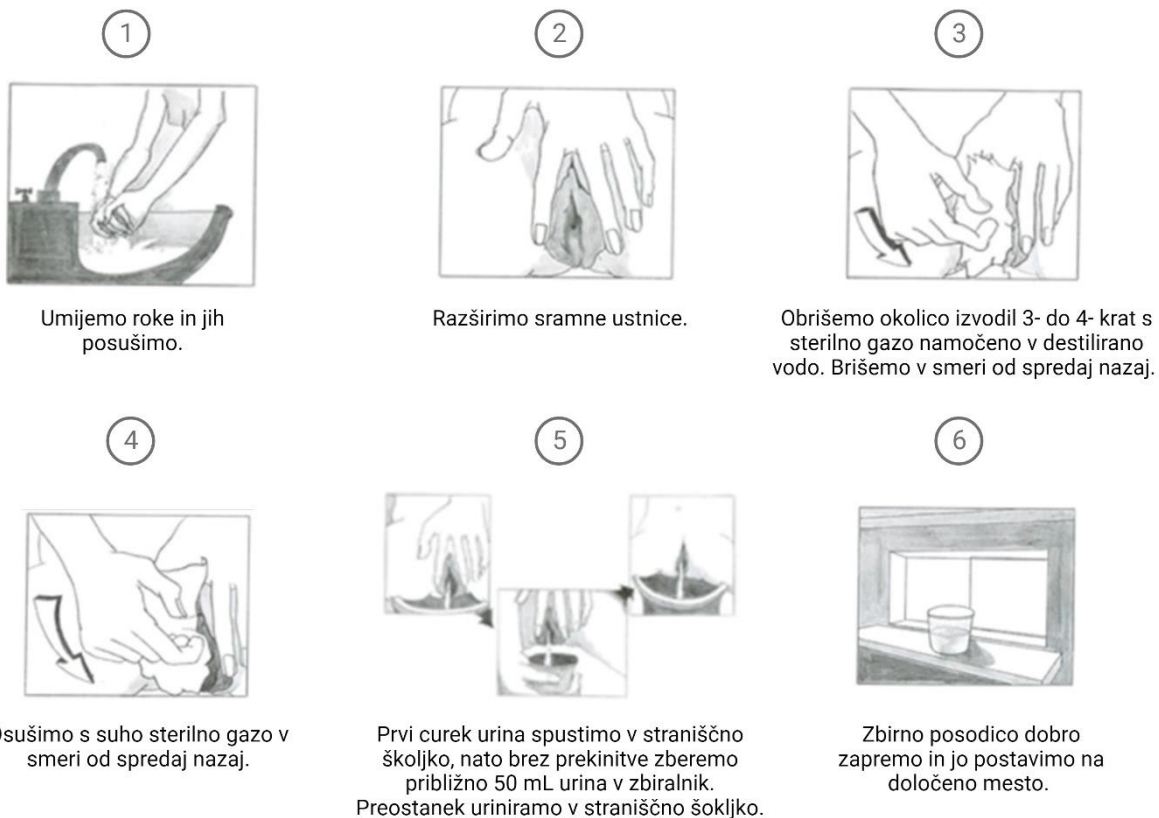
Urin je tekočina, s katero se iz organizma izločajo odpadni produkti metabolizma ter telesu tuje in škodljive snovi.

Odvzem urina

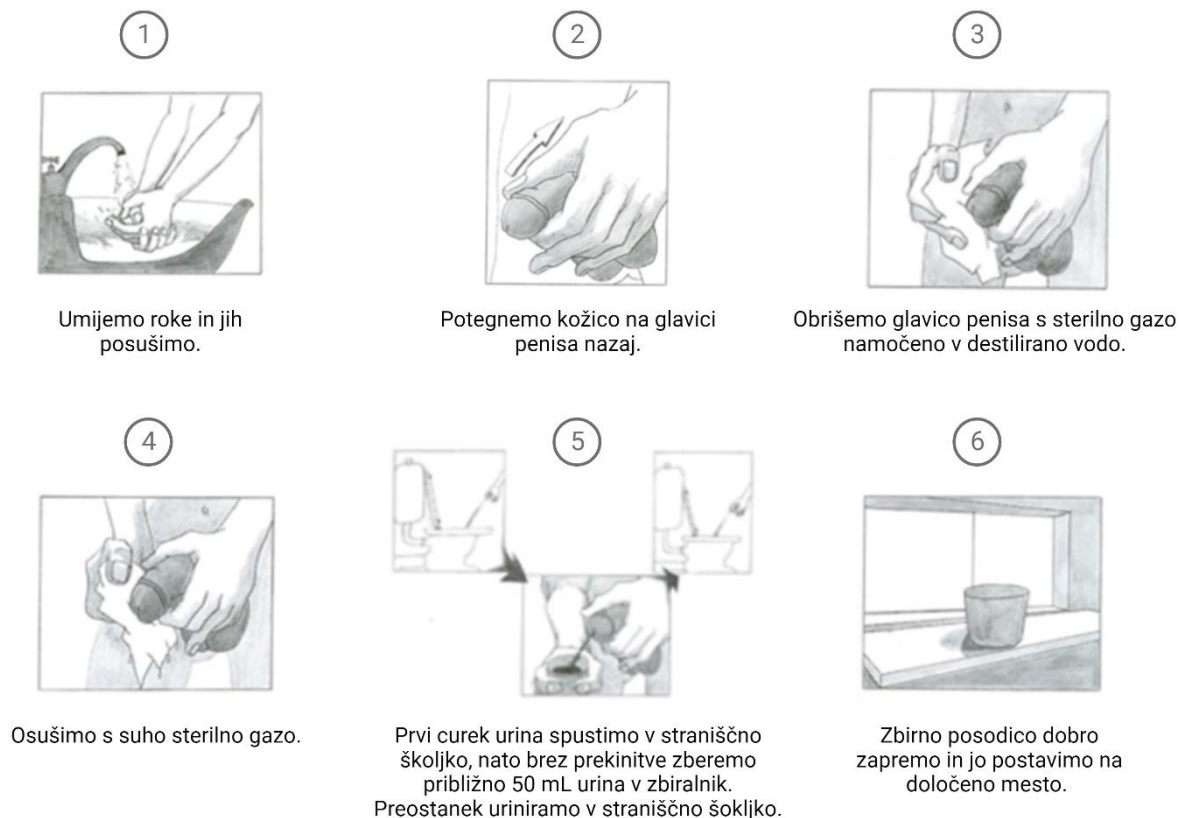
Urin je vzorec odvzet z ne-invazivno metodo za preverjanje delovanja ledvic in kot ultrafiltrat plazme je pokazatelj homeostaze organizma. Za zanesljive rezultate urinske analize je bistvenega pomena spremljanje analitskih in bioloških dejavnikov, kot so prehranjevalne navade, pogostost uriniranja, telesna aktivnost, delovanje ledvic, vnos diuretikov. Pred odvzemom mora strokovna oseba dati preiskovancu natančna navodila za odvzem, saj tako pred-analitski dejavniki (vključno z biološkimi) vplivajo na rezultate laboratorijskih analiz. Pridobljen urinski vzorec mora biti dovolj koncentriran, da lahko zaznamo diagnostično pomembne analite, na katere med drugim vplivajo naslednji dejavniki:

- Hitrost izločanja urina
- Sposobnost ledvic koncentriranja urina
- Vnos diuretikov
- Prehrana
- Telesni napor in počitek.

Urinski vzorec ne sme biti kontaminiran, zato je zelo pomemben način zbiranja vzorca. Pomembno je, da si očistimo roke, izvodila ter prvi in zadnji curek urina spustimo v straniščno školjko. Za laboratorijske preiskave vzamemo srednji curek urina. Pravilen odvzem srednjega curka za ženske je prikazan na sliki 1, za moške pa na sliki 2.



Slika 1: Priporočeni postopek za odvzem urina pri ženskah (prirejeno po 1).

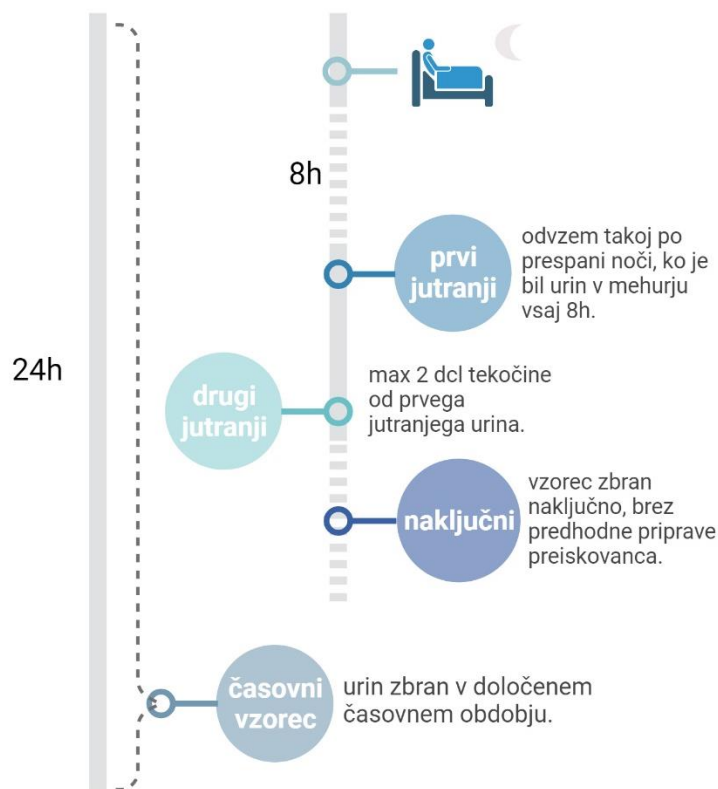


Slika 2: Priporočeni postopek za odvzem urina pri moških (prirejeno po 1).

Vrste urinskih vzorcev

Urinske vzorce ločujemo glede na **čas** in glede na **način** odvzema.

Glede na **čas** odvzema jih ločujemo na prvi jutranji urin, drugi jutranji urin, naključni vzorec in urin zbran v določenem času (Slika 3).



Slika 3: Delitev urinskih vzorcev glede na ČAS odvzema (2).

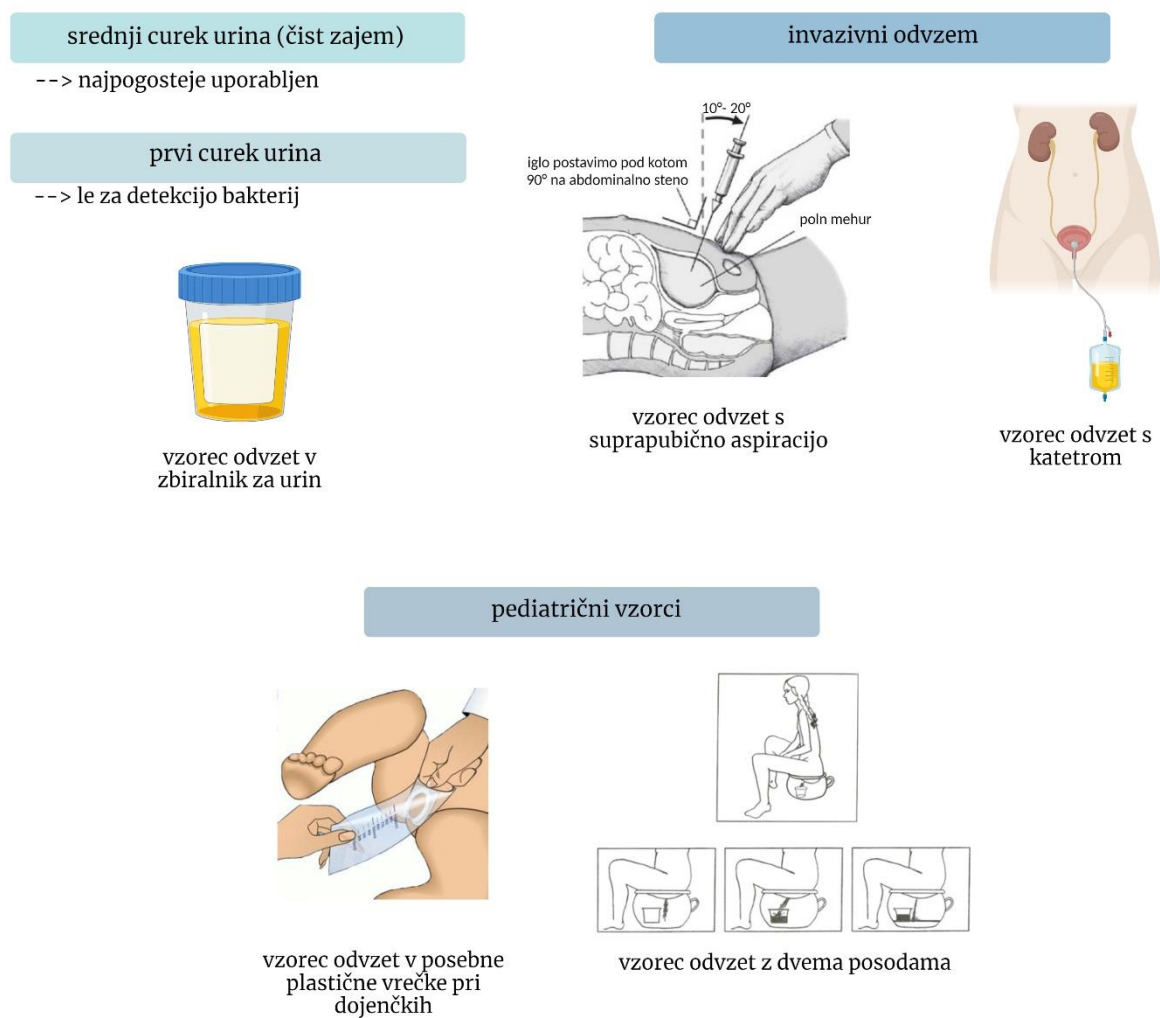
Prvi jutranji urin je vzorec, ki je bil v mehurju vsaj 8 ur, zato je le-ta zelo koncentriran in zato najbolj primeren za analizo večine analitov, še posebno tistih, ki so v urinu normalno prisotni v nizkih koncentracijah. Tak vzorec ni primeren za citološke analize, zaradi sprememb epitelnih celic. To je vzorec izbora za bolnišnične preiskovance, medtem ko je pri ambulantnih preiskovancih problem pravočasna dostava v laboratorij.

Za ambulantne preiskovance se zato uporablja **drugi jutranji urin**, torej vzorec, ki je zbran 2 do 4 ure po prvem. Na vsebnost analitov lahko vplivata tako hranjenje kot tudi telesni napor. Do odvzema vzorca lahko preiskovanec popije le 200 mL vode, če tega ne upošteva se vzorec že smatra za naključnega.

Naključni vzorec je najpogosteje uporabljan za rutinske preiskave in presejalna testiranja. To je vzorec zbran v kateremkoli času, običajno čez dan, brez kakršne koli priprave preiskovanca. Ker na njega vplivajo različni dejavniki, vključno z vnosom tekočine, omenjeni vzorec dostikrat ne da realne slike, je pa iz logističnih razlogov vseeno najbolj pogosto uporabljen vzorec pri ambulantnih preiskovancih.

Urin zbran v določenem času se uporablja za izločevanje vpliva cirkadialnega ritma na izločanje analitov. Poleg bioloških ritmov lahko na koncentracijo vpliva telesni napor, hidratacija in presnova. Na takšen način lahko primerjamo torej koncentracijo analita v urinu in v krvi. Takšni vzorci zahtevajo natančna navodila in zbiralnike s konzervansi.

Urinske vzorce ločujemo med seboj tudi glede na **način odvzema**, in sicer na čisti zajem, prvi curek urina, vzorec odvzet s katetrom, vzorec odvzet s suprapubično aspiracijo in na pediatrične vzorce (Slika 4).



Slika 3: Delitev urinskih vzorcev glede na NAČIN odvzema (prirejeno po 1,3,4).

Čist zajem urina oz. **srednji curek** urina se uporablja pri vsakodnevem laboratorijskem odvzemu. Važno je, da preiskovanec dobi natančna navodila za odvzem.

Prvi curek urina se načeloma ne uporablja in ga pri rutinskih odvzemih spustimo v straniščno školjko. Uporablja se le v primeru detekcije bakterije *Chlamydia trachomatis* s PCR metodo.

Pediatrične vzorce lahko odvzamemo na več načinov, glede na starost otroka.

Pri dojenčkih uporabimo posebne plastične vrečke s hipoalergenim adhezivnim sredstvom. Vrečko prilepimo na perineum okoli izvodil, ki jih predhodno dobro očistimo in osušimo. Pri deklicah pazimo, da ne zajamemo analne odprtine.

Pri starejših otrocih, ki lahko nadzirajo uriniranje, pa uporabimo nočno posodo z vstavljenim zbiralnikom, kjer zajamemo srednji curek urina.

Poznamo še dva bolj invazivna načina odvzema urina.

Odvzem s katetrom izvede zdravstveni delavec, ki vstavi sterilni kateter skozi sečnico v mehur ali skozi sečevod neposredno v ledvice. Vzorec se tako zbira v katetersko vrečko ter se ga uporablja za določanje bakterijskih kultur in diferencialno diagnostiko.

Odvzem s suprapubično punkcijo prav tako izvede zdravstveno osebje, in sicer s sterilno iglo prebode abdominalno steno in mehur. Tako je omogočen sterilen odvzem urina (izognemo se kontaminaciji), največkrat se ga poslužujemo pri otrocih.

Zbiralniki za urin

Vsi zbiralniki za urin morajo biti ustrezno označeni pred oz. takoj po odvzemu. Oznaka oz. nalepka mora biti nujno na lončku, nikoli ne sme biti samo na pokrovu.

Podatki na nalepki:

- Bolnikova identifikacija (edinstvena)
- Datum, čas in metoda odvzema
- Identifikacija pošiljatelja
- Uporabljen konzervans.

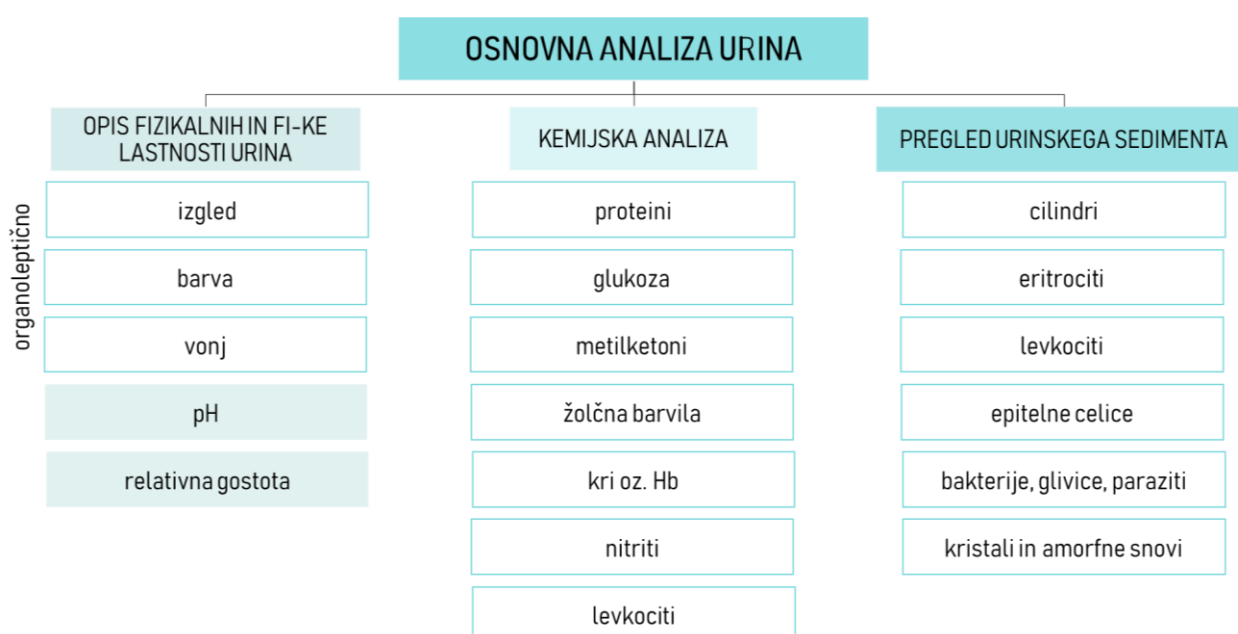
Poznamo več vrst zbiralnikov za urinske vzorce. **Primarni zbiralniki za enkratni odvzem** urina se uporabljajo za rutinske analize, so narejeni za enkratno uporabo, prosojni, kemično čisti, suhi in imajo pokrovček. Tipično imajo kapaciteto 100 mL. **Primarni zbiralniki za zbirni urin** so veliko večji (kapaciteta 2-3 L), imajo široko odprtino, so kemično čisti in imajo vodotesni pokrov. Narejeni so iz snovi, ki zaščiti urin pred zunanjimi dejavniki (večinoma so iz neprosojnih materialov, da zaščitijo urin pred svetlobo), ne motijo analitov prisotnih v vzorcu in imajo dodane tudi konzervanse. **Sekundarni zbiralniki za osnovno urinsko analizo** so prosojne epruvete za analizo, ki preko podtlaka omogočajo zaprt prenos iz primarnega zbiralnika. Tako se zmanjša kontaminacija vzorcev in poveča varnost laboratorijskega osebja.

Osnovna analiza urina

Rutinska kvalitativna analiza urina je ena izmed osnovnih laboratorijskih preiskav.

Urinsko analizo sestavljajo trije deli (Slika 5):

1. **opis fizikalnih in fizikalno-kemijskih lastnosti urina** (videz, barva, vonj, pH, relativna gostota)
2. **kemijska analiza** (ugotavljamo ali urin vsebuje spojine, ki jih v urinu zdravih oseb ni ali pa se nahajajo le v sledovih in jih z rutinskimi testi ne moremo dokazati)
3. **pregled urinskega sedimenta** (mikroskopski pregled sedimenta po centrifugiranju urina)



Slika 4: Delitev osnovne analize urina (2).

1. Opis fizikalnih in fizikalno-kemijskih lastnosti urina

Videz: Svež urin zdravih oseb je običajno bister.

Barva: Urin zdravih oseb je običajno rumen. Urinu dajejo barvo urinski pigmenti.

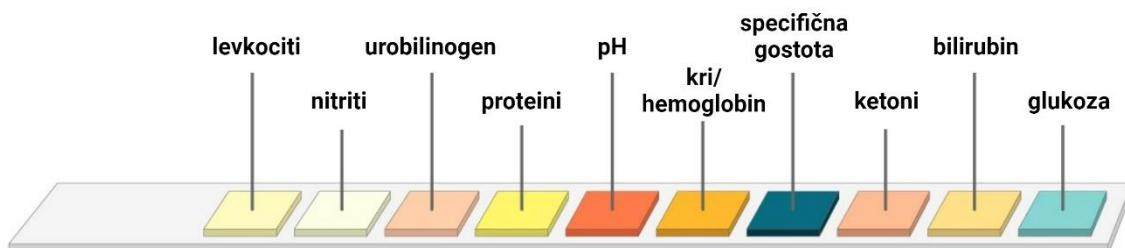
Vonj: Normalen svež urin ima značilen vonj, ki spominja na vonj goveje juhe.

pH: Zdravi ljudje izločajo šibko kisel do šibko alkalen urin, z razponom pH od 4,5 – 8,0.

Relativna gostota: Odvisna je od količine izločenega urina. Normalen razpon relativne gostote je pri zdravih ljudeh dokaj širok, od 1,010 do 1,025. Ker imajo ledvica veliko sposobnost koncentriranja ali redčenja urina, se relativna gostota lahko giblje celo od 1,001 do 1,035.

2. Kemijska analiza urina

V urinu ugotavljamo prisotnost proteinov, glukoze, ketonskih teles, žolčnih barvil, krvi oz. hemoglobina, levkocitov in nitritov (Slika 7). Naštete spojine v urinu zdravih oseb normalno niso prisotne, izjema je le žolčno barvilo urobilinogen, katerega se v urin izloči od 0,5 - 5,0 $\mu\text{mol/dan}$.



Slika 5: Polja na reagenčnem traku za splošno analizo urina (lahko se razlikuje glede na proizvajalca) (prirejeno po 5).

3. Pregled urinskega sedimenta

S pregledom urinskega sedimenta lahko pridemo do pomembnih podatkov, ki iz kemijske analize urina niso razvidni.

Sediment delimo na:

- Neorganizirani (razne soli, amorfne in v obliki kristalov)
- Organizirani (cilindri, epitelne celice, levkociti, eritrociti, spermiji, mikroorganizmi).

Postopek

Za analizo uporabimo naključni vzorec urina, odvzet v čisto, sterilno posodo.

Nato naredimo organoleptično in kemijsko analizo urina ter opažanja zapišemo dnevnik.

1. Opis fizikalnih in fizikalno-kemijskih lastnosti urina

Izgled, barvo in vonj urina ocenimo organoleptično.

2. Kemijska analiza urina

pH in relativno gostoto, ter prisotnost proteinov, glukoze, nitritov, ketonskih teles, levkocitov, bilirubina, urobilinogena in krvi v urinu določamo z reagenčnim trakom. Pri tem uporabljamo svež, ne-centrifugiran urin.

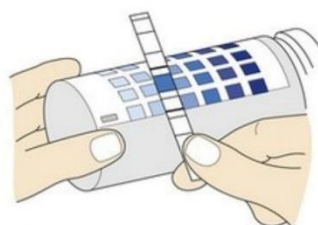
Delamo po postopku predstavljenem na sliki 8.

① urin dobro premešamo

② reagenčni trak popolnoma potopimo v urin; največ za 1 sekundo

③ odvečni urin odstranimo tako, da trak povlečemo po robu epruvete

④ po 60 s primerjamo barvno reakcijo na traku z barvo na tabeli vsebnika za urinske trakce



Slika 6: Izvedba kemijske analize urinskega vzorca z reagenčnim lističem (prirejeno po 6).

Video vsebine

Navodila za čisti zajem urina: <https://www.youtube.com/watch?v=oFChXnQgZek>

Kaj je osnovna analiza urina: <https://www.youtube.com/watch?v=xUP0tJPm4V4>

Odvzem s katetrom: https://www.youtube.com/watch?v=Dkf8o_zUzd8

Kit za suprapubično punkcijo: <https://www.youtube.com/watch?v=XQzmlxOAqYo>

Predlagana literatura

- Skitek M., Trampuš Bakija A. Priporočeni postopek za odvzem, zbiranje, hranjenje, stabiliziranje in transport urina. SZKK. Ljubljana 2001:19.
- Berce K., Grošel A., Trampuš Bakija A. Priporočeni postopek za osnovno analizo urina. SZKKLM. Ljubljana 2021:48.
- Kaufman J, Sanci L, Temple-Smith M. What's the catch? Urine sample collection from young pre-continent children: a qualitative study in primary care. BJGP Open. 2020 Oct 27;4(4):bjgpopen20X101060.

Viri

1. Skitek M, Trampuš Bakija A: Priporočeni postopek za odvzem, zbiranje, hranjenje, stabiliziranje in transport urina. SZKK. Ljubljana, 2001:19.
2. BioRender, <https://app.biorender.com/user/signin>, 20.9.2023
3. Blach O, Ali A, Coker C: URINARY RETENTION - MANAGEMENT GUIDE FOR NON-UROLOGISTS. Foundation Years Journal. 2017;11. 85-89.
4. S+LMED Medical Supplies, Infant child urine bag collector, <https://solmed.com.au/products/infant-child-urine-bag-collector-200ml-sterile-x-5>, 20.9.2023
5. Human Bio Media, Urinalysis Lab Simulation, <https://www.humanbiomedia.org/urine-test-strip-simulation/>, 20.9.2023
6. Basicmedical Key, Urinalysis, <https://basicmedicalkey.com/urinalysis/>, 20.9.2023

Odgovorite na vprašanja

1. Katere bolezni/ motnje lahko odkrivamo s preiskavami urina?

2. Naštejte osnovne preiskave urinskega vzorca.

3. Na vaji bomo po navodilih izvedli preiskavo na testnem traku. Opreделите, za kakšno vrsto preiskave gre in na kratko opišite potek analize.

Rezultati praktičnega dela

a) organoleptični pregled urina

b) analiza z reagenčnim trakom

Komentar rezultatov

Pregledal-a:

Datum:

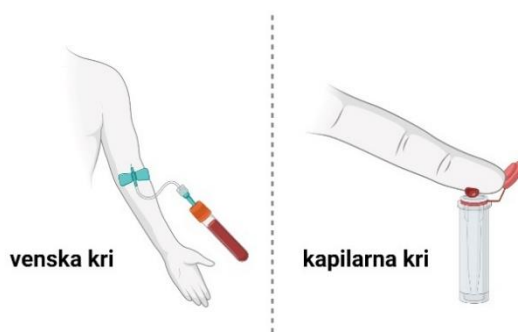
Pripombe:

ODVZEM KAPILARNE KRVI

Asist. Lara Smrdel, mag. lab. biomed.

Uvod

Kapilarno kri pridobimo z vbodom v kožo do usnjice, kjer se nahajajo najtanjše žile – kapilare. Kapilarna kri je mešanica venske in arterijske krvi ter medcelične in celične tekočine. Sestava vzorca kapilarne krvi je odvisna od pretoka krvi v podkožnih kapilarah v trenutku odvzema. Pretok krvi vpliva na razmerje med vensko in arterijsko krvjo v kapilarah – delež arterijske krvi je večji, ker je tlak v arteriolah višji kakor v venulah. Poleg tega je kapilarna kri v koži bolj podobna arterijski kot katerakoli venska kri, še posebno, če mesto odvzema segrejemo, saj to poveča pretok krvi in posledično delež arterijske krvi. Kasneje bomo videli, da obstajajo določene pomembne razlike med kapilarno in vensko oz. arterijsko krvjo (Slika 1).



Slika 7: Primerjava invazivnosti odvzema venske in kapilarne krvi (1).

Meritve koncentracije večine analitov v kapilarni krvi so primerljive s tistimi v venski krvi. Obstajajo majhne a klinično pomembne razlike:

- V kapilarni krvi so lahko vrednosti: kalcija, elektrolitov, celokupnih proteinov, pCO_2 , trombocitov, hemoglobina, MCHC **nižje**;
- Vrednosti: glukoze, LDH, AST, levkocitov, MCV, MPV, pO_2 , sO_2 pa **višje**.
- Vrednost kalija je lahko **višja, nižja ali enaka**.

Med pogoste napake pri odvzemu kapilarne krvi sodi **hemoliza**, ki je v serumu iz kapilarne krvi bolj opazna kot v serumu iz venske krvi. Povzročijo jo alkohol, stiskanje mesta odvzema, krhkost eritrocitov in pri novorojenčkih tudi višji hematokrit. Zavedati se je potrebno, da so rezultati meritev iz hemolizirane krvi napačni.

Na izvidu mora biti jasno označeno, da gre za rezultate meritev iz vzorca kapilarne krvi!

Kdaj se odločamo za odvzem kapilarne krvi?

Kapilarno kri odvezamo iz različnih razlogov. Najpogosteje se za kapilarni odvzem odločamo v pediatriji, saj je pri novorojenčkih in majhnih otrocih venski odvzem tehnično zahteven in v nekaterih primerih lahko celo tvegan. Lahko na primer povzroči anemijo, srčni zastoj, vensko trombozo, krvavitve, refleksni spazem arterij, ali poškodbo okolnega tkiva. Poleg pediatrične

populacije se za odvzem kapilarne krvi odločamo v določenih primerih tudi pri odrasli populaciji. Le-tega se poslužujemo v primeru težkega dostopa do ven ali ko potrebujemo za analize le manjši volumen krvi. Poleg tega je kapilarni odvzem priporočen še v posebnih primerih kot so:

- Posamezniki s težko dostopnimi ali občutljivimi venami, med katere sodijo starejše osebe, bolniki z opeklinami ali brazgotinami na mestu odvzema, bolniki z malignimi obolenji na IV terapiji, posamezniki s prekomerno telesno težo;
- Posamezniki, ki imajo motnje strjevanja krvi ali nagnjenost k trombozi;
- Za samokontrolo na domu (npr. sladkorna bolezen) ter za testiranje ob pacientu – POCT;
- Posamezniki, ki imajo velik strah pred iglami in posledično pred odvzemom venske krvi;
- V primerih, ko se želimo izogniti anemiji zaradi pogostih diagnostičnih postopkov.

Obstajajo pa posebne situacije v katerih kapilarne krvi ne smemo odvzeti (Slika 2). Ne odvezemo je pacientom, ki so v šokovnih stanjih, zaradi slabe periferne cirkulacije krvi. V primeru dehidracije je razmerje med celicami in plazmo porušeno, posledično tudi ostali parametri ne odražajo dejanskega stanja v krvi pacienta. Prav tako kapilarne krvi ne jemljemo kadar potrebujemo veliko vzorca, torej ali polne krvi, seruma ali plazme. Še posebej pa ne smemo uporabiti kapilarne krvi za teste hemostaze ter za določanje vnetja preko določanja hitrosti sedimentacije eritrocitov.



- Težko dostopne ali občutljive vene
- Motnje strjevanja krvi
- Prekomerna telesna teža
- Odvzem za samokontrolo
- POCT
- Strah pred venskim odvzemom
- V izogib anemiji zaradi diagnostičnih postopkov



- podhlajeni bolniki ali bolniki v šokovnih stanjih
- dehidrirani bolniki
- testi hemostaze
- analize, kjer je potreben večji volumen krvi, plazme ali seruma

Slika 8: Primeri v katerih kapilarno kri lahko odvezamo in primeri v katerih je ne smemo (2).

Material in pribor za odvzem kapilarne krvi

Potrebni material in pribor mora vključevati vsaj:

- 70 % raztopino izopropilnega alkohola ali posebne tovarniško pripravljene sterilne in posamično pakirane zložence, ki so prepojeni s 70 % raztopino izopropilnega alkohola (npr. PDI zloženci),
- Sterilne tampone,
- Lancete za odvzem kapilarne krvi (pri otrocih uporabljamo posebne pediatrične lancete, ki so krajše, da ne pride do poškodbe kosti),

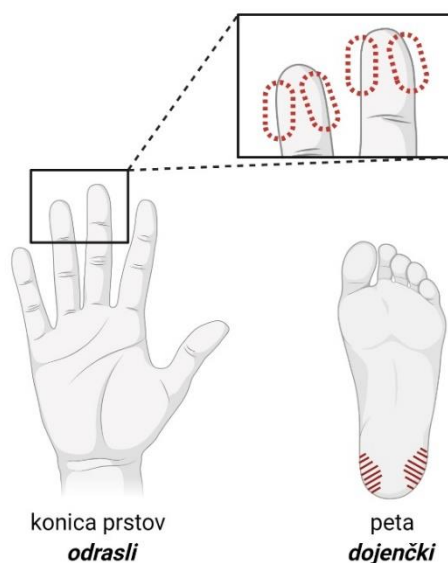
- Mikro epruvete,
- Razkužilo za roke,
- Rokavice za enkratno uporabo,
- Plastični zabojnik za odpadni ostri infektivni material,
- Koš za medicinske odpadke,
- Koš za mešane odpadke.



Slika 3: Pribor za odvzem kapilarne krvi (1).

Mesto vboda

- **Odrasli in otroci, ki že hodijo:** palmarna površina zadnjega segmenta prstov na roki, na sredino zadnjega segmenta prsta, ker je tu tkivo 2x debelejše kot na konici prsta ali ob strani. Izogibamo se mezinču. Nikoli ne odvajamo iz prsta, ki je otekel ali poškodovan (Slika 4).
- **Otroci do 1. leta:** iz lateralne ali medialne površine pete, nikoli ne zbademo v sredino pete ali v zadnjo krivino pete, da ne zabodemo v kost.

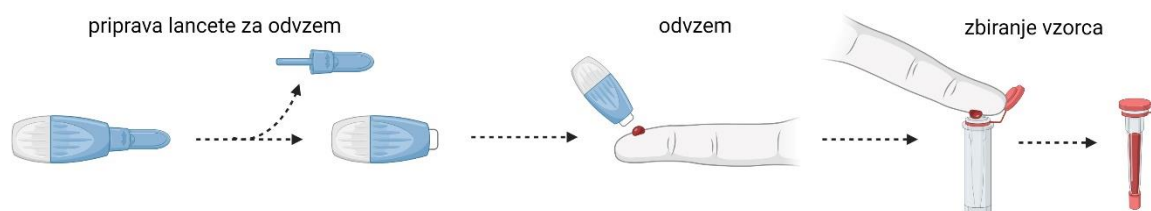


Slika 4: Priporočeno mesto vboda z lanceto (1,3).

Mesto odvzema lahko ogrevamo s toplo in vlažno brisačo. S segrevanjem vbodnega mesta povečamo pretok krvi, kar spremeni razmerje med vensko in arterijsko krvjo v korist arterijske krvi. Ne vplivamo na spremembo biokemijskih in hematoloških rezultatov, medtem ko se pH in rezultati plinske analize lahko spremenijo.

Izvedba odvzema

1. Nanesemo alkohol na vbodno mesto in pustimo, da se posuši (obrišemo z zložencem).
2. Preluknjamo kožo z enim hitrim, neprekinjenim in premišljenim potegom, da dosežemo dober pretok krvi in preprečimo potrebo po ponavljanju vboda.
3. Prvo kapljico krvi obrišemo, ker vsebuje več tkivne tekočine ali debri (celice kože, ki se luščijo).
4. Izogibamo se stiskanju prsta ali pete, ker na ta način razredčimo vzorec s tkivno tekočino in povečamo verjetnost hemolize.
5. Začnemo z zbiranjem vzorca v mikro-epruveto.
6. Če mikro-epruveta vsebuje antikoagulant jo po končanem odvzemu 8 do 10-krat nežno obrnemo, da premešamo vsebino.
7. Ko je postopek zaključen močno pritismo tampon na vbodno mesto, da ustavimo krvavitev.



Slika 9: Postopek odvzema kapilarne krvi (1,4).

Vrstni red odvzema laboratorijskih vzorcev je pomemben! Na ta način zmanjšamo verjetnost napačnih rezultatov.

Vzorci odvajamo v spodnjem vrstnem redu, začenši s hematološkimi vzorci:

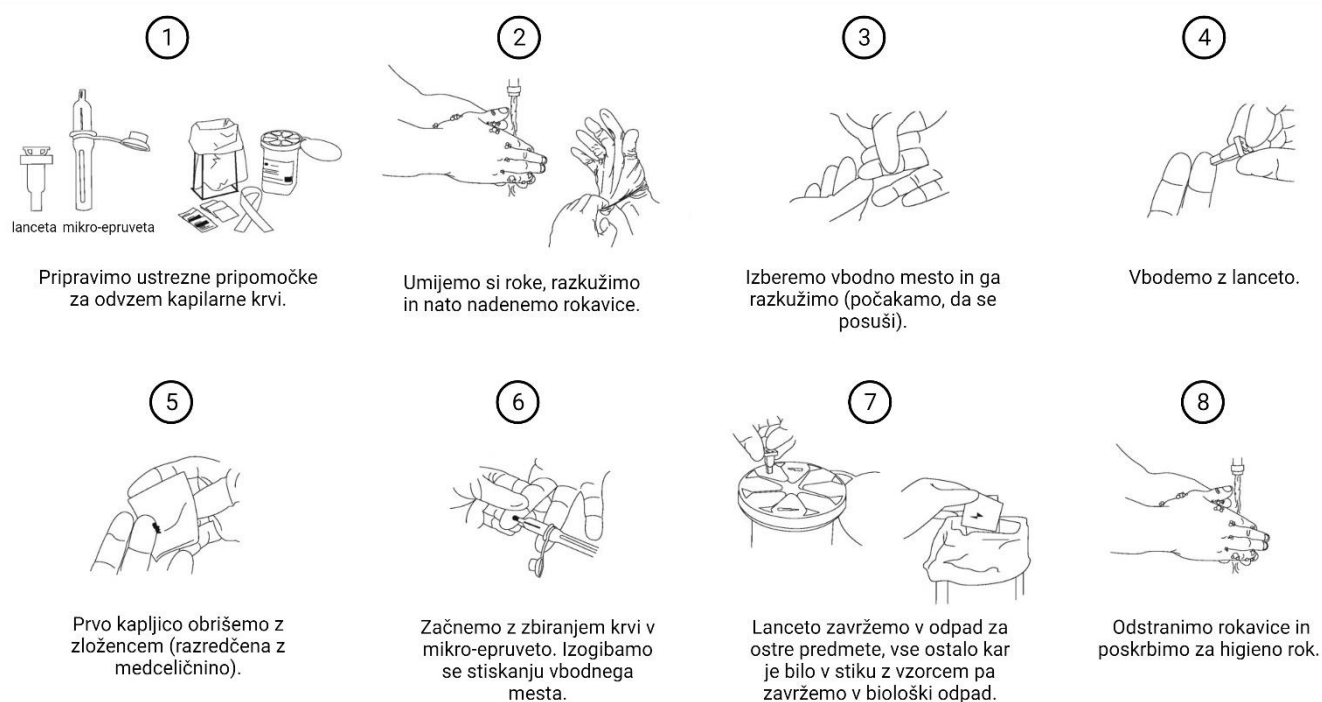
- Vzorci za hematološke analize;
- Vzorci za biokemijske analize;
- Vzorci za krvne banke.

Za hematološke preiskave nikoli ne uporabimo antikoagulant heparin, saj poškoduje celice in tudi moti barvanje. Kri takoj po odvzemu premešamo, da preprečimo koagulacijo. Nato odvajamo kri za z drugimi dodatki npr. s heparinom za namen plinske analize, določanje pH ali za določanje hematokrita. Pri plinski analizi moramo biti pozorni, da ni mehurčkov oz. da ne pride v stik z zrakom, saj to spremeni sestavo. Nazadnje odvajamo kri za serum.

Najpogostejše napake

Vzorec kapilarne krvi je zelo občutljiv na pred-analitične napake in posledično z analizo nepravilno odvzetega vzorca dobimo napačne rezultate.

- **Hemoliziran vzorec:** razkužilo, stiskanje vbodnega mesta, zajemanje kapljic, premočno mešanje/stresanje vzorca.
- **Koaguliran vzorec:** premalo anti-koagulanta, neustrezno mešanje, počasen tok krvi.
- **Razredčen vzorec:** preveč anti-koagulanta, zbiranje prve kapljice, pretirano stiskanje vbodnega mesta.



Slika 10: Izvedba odvzema kapilarne krvi po WHO smernicah (prirejeno po 5).

PRIPRAVA KRVNIH RAZMAZOV

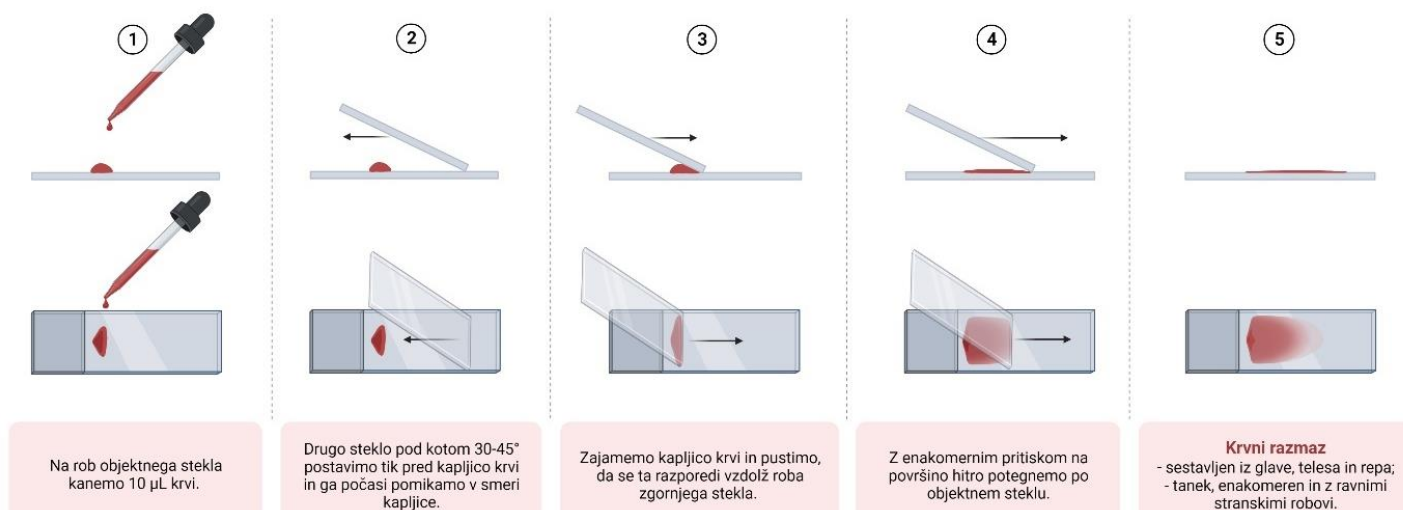
Asist. Lara Smrdel, mag. lab. biomed.

Krvne razmaze lahko pripravimo iz kapilarne ali venske krvi z anti-koagulantom (EDTA) pripravimo z namenom diagnostike levkemij in bolezni eritrocitov, ter za diagnostiko malarije.

Pri levkemijah v razmazu vidimo nezrele oblike belih krvnih celic, pri boleznih eritrocitov pa nepravilne oblike rdečih krvnih celic, na primer srpaste celice pri srpasto-celični anemiji. Pri bolnikih z malarijo vidimo parazite v eritrocitih.

Postopek priprave krvnega razmaza

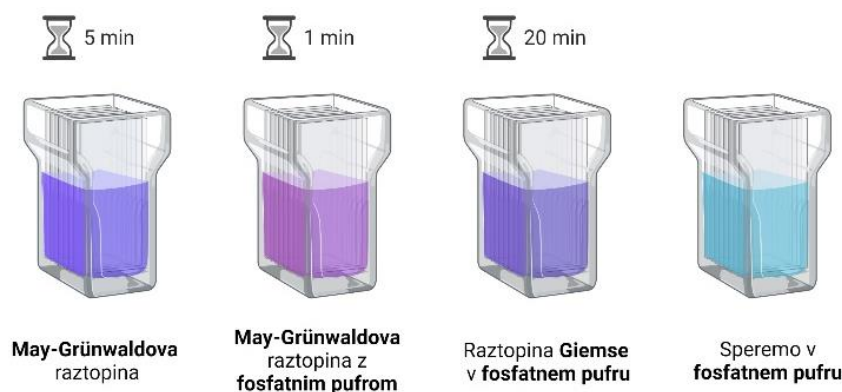
1. Za pripravo krvnega razmaza uporabimo čisto objektno steklo, na katerega kanemo majhno kapljico oz. cca 10 μL sveže kapilarne ali venske krvi odvzete z EDTA.
2. S palcem in kazalcem desne roke primemo drugo steklo, s katerim bomo razmazali kri, in ga pod kotom 30°-45° postavimo na objektno steklo, tik pred kapljico krvi.
3. Počasi ga premaknemo v desno, da zajamemo kapljico krvi in se ta razporedi vzdolž roba zgornjega stekla.
4. Nato z enakomernim pritiskom na površino hitro potegnemo po objektnem steklu. Ob tem ne smemo spreminjati nagiba in pritiska na objektno steklo.
5. Debelina krvnega razmaza je odvisna od pritiska na površino objektnega stekla, od kota in hitrosti potega.



Slika 11: Postopek priprave krvnega razmaza (1,6).

Barvanje krvnih razmazov

1. Posušene krvne razmaze zložimo v stojalo in potopimo v kadičko z May-Grünwaldovo raztopino za 5 min.
2. Razmaze brez vmesnega spiranja potopimo za 1 min v May-Grünwaldovo raztopino z fosfatnim pufrom (1:1).
3. Razmaze potopimo v raztopino Giemse v fosfatnem pufru (1:10) in barvamo 20 min.
4. Speremo v fosfatnem pufru in posušimo.



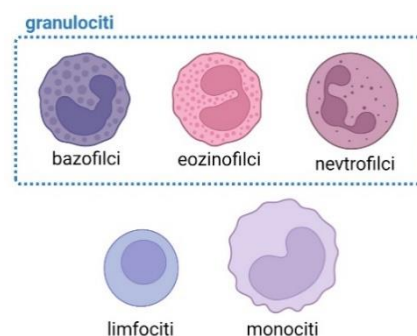
Slika 12: Barvanje krvnih razmazov po May-Gruwald-Giemsa (1,7).

Kakovost barvanja ocenjujemo glede na morfologijo eritrocitov, ki naj bi bili obarvani rožnato, brez vodnih vključkov in s celimi robovi. Preparati ne smejo vsebovati nečistoč. Če obarvan krvni razmaz ni ustrezen za diferenciacijo, pripravimo novega ali znova pripravimo barvila za barvanje krvnih razmazov.

- Celice ocenjujemo v **zaobljenem delu krvnega razmaza**. Eritrociti so v tem delu tesno drug ob drugem, vendar se ne prekrivajo.
- Ker so krvne celice **neenakomerno porazdeljene** po površini razmaza se med mikroskopiranjem premikamo po **načelu „cik-cak“**. Manj zrele celice in monociti so številčnejši v repu in robovih razmaza.
- Pregledamo vsaj 200 celic in izrazimo rezultat z relativnim številom. Če število vseh levkocitov pomnožimo z deležem posamezne vrste dobimo absolutno število posameznih vrst. Rezultat izrazimo s številom celic v litru krvi. Absolutna številčna konc. posameznih vrst levkocitov, je bolj pomembna kot pa njihov delež.

Pravilno obarvan razmaz

- Celična jedra: vijoličasta
- Celična citoplazma: rožnato do modra
- Nevtrofilne granulacije: sivo-vijolične
- Eozinofilne granulacije: oranžne
- Bazofilne granulacije: temno vijolične



Slika 13: Bele krvne celice (1,8).

Video vsebine

Pribor za kapilarni odvzem krvi: <https://www.youtube.com/watch?v=5FImaAl6hvo>

Kapilarni odvzem krvi: <https://www.youtube.com/watch?v=aXLTod5ZH8U>

Kapilarni odvzem pri novorojenčkih: https://www.youtube.com/watch?v=qOvyph_EyY

Priprava Krvnega razmaza: <https://www.youtube.com/watch?v=nbRUiWl2Qrs>

Krvne celice: <https://www.youtube.com/watch?v=aVd7OnG4c3c>

Predlagana literatura

- Božnar Alič E., Trampuš Bakija A. Priporočen postopek za odvzem kapilarne krvi. SZKKLM, Ljubljana 2020: 28.
- Ernst DJ, Balance LO, Calam RR, McCall R, Szamosi DI, Tyndall L. Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens. 6th ed. Approved Standard GP42-A6. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- World Health Organisation: WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy, 2010; 41-45.
- Krleza JL, Dobrotic A, Grzunov A, Maradin M: Capillary blood sampling: national recommendations on behalf of the Croatian Society of Medical biochemistry and Laboratory Medicine. Biochemia Medica 2015; 25 (3): 335-58.
- Adewoyin AS, Nwogoh B: Peripheral blood film - a review. Ann Ib Postgrad Med. 2014 Dec;12(2):71-9.

Viri

1. BioRender, <https://app.biorender.com/user/signin>, 20.9.2023
2. Božnar Alič E., Trampuš Bakija A. Priporočen postopek za odvzem kapilarne krvi. SZKKLM, Ljubljana 2020: 28.
3. MLO, Best practices in capillary blood collection, <https://www.mlo-online.com/diagnostics/specimen-collection/article/21206382/best-practices-in-capillary-blood-collection>, 20.9.2023
4. NHS, How to carry out a capillary blood test, <https://www.rbht.nhs.uk/sites/nhs/files/Leaflets/How%20to%20carry%20out%20a%20capillary%20blood%20test%20-%20April%202021.pdf>, 20.9.2023
5. World Health Organisation: WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy, 2010; 41-45.
6. DPDx Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern, Preparation of blood smears, https://www.cdc.gov/dpdx/resources/pdf/benchaid/malaria/malaria_procedures_benchaid.pdf, 20.9.2023
7. Cellavision, May-Grünwald Giemsa staining, <https://www.cellavision.com/products/reagents/may-grunwald-giemsa-staining>, 20.9.2023
8. Bain BJ: Blood cells: A practical guide. 5th ed, Blackwell, 2015:482.

Odgovorite na vprašanja

1. Razložite, pri katerih preiskovancih in kliničnih stanjih je kapilarni odvzem krvi:

a) indiciran

b) kontraindiciran

2. Naštejte razlike v sestavi kapilarne in venske krvi.

3. Opišite postopek odvzema kapilarne krvi.

4. Opišite postopek priprave krvnega razmaza.

5. Opišite postopek barvanja po Pappenheimu.

Rezultati praktičnega dela

a) Naštejte in skicirajte celice, ki ste jih videli pod mikroskopom.

Pregledal-a:

Datum:

Pripombe:

ODVZEM VENSKE KRVİ

Asist. Lara Smrdel, mag. lab. biomed., Petra Ferkov, mag. lab. biomed.

Uvod

Venska kri je najpogostejše analiziran biološki vzorec, do katerega pridemo razmeroma enostavno. Je najpogostejše uporabljen krvni vzorec za laboratorijske preiskave pri odraslih in se uporablja kot izvorni vzorec za pridobitev drugih bioloških vzorcev kot so serum, plazma, hemolizat in celice. Odvzem izvede za to usposobljeno strokovno osebje po kriterijih določenih v priporočenih postopkih za odvzem venske krvi. Ta postopek se strokovno imenuje flebotomija, medtem ko venepunkcija pomeni vstavev igle v veno, ne nujno z namenom odvzema venske krvi (intravenska terapija, krvodajalstvo).

S krvnimi vzorci je potrebno vedno ravnati kot s potencialno kužnim materialom, saj je sam vzorec lahko okužen (npr. HIV, HBV, HCV), tudi če ni posebej označen (recimo bolnik ne ve za okužbo, ali pa je ta v procesu diagnosticiranja). Tako moramo pri odvzemu poskrbeti za lastno varnost, varnost pacienta in preprečiti kontaminacijo vzorca. Zato kri vedno jemljemo na isti način, po standardiziranem postopku in pri tem obvezno uporabljamo osebna zaščitna sredstva (rokavice, haljo).

Princip

Za odvzem venske krvi se uporablja zaprt vakuumski sistem, ki ga sestavljajo sterilna obojestranska igla, plastični nosilec in vakuumsko epruveta z določenim volumnom podtlaka. Na takšen način minimiziramo stik analitika z vzorcem in posledično verjetnost okužbe (vzorca in osebe) ter zagotavljamo odvzem točno določenega volumna krvi. Kri najpogostejše jemljemo iz srednje podlahtne vene (kubitalne), lahko pa jemljemo tudi iz cefalne in bazilicne vene.

Predanalitski dejavniki, ki vplivajo na rezultate krvnih analiz

Biološki dejavniki

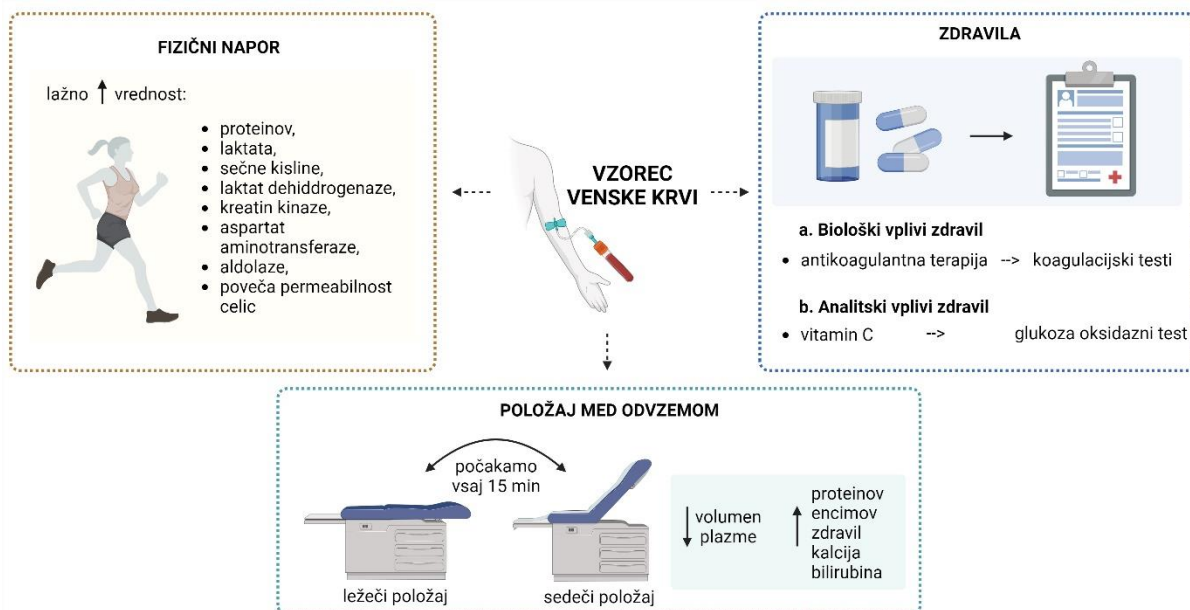
- Fiziološki in genetski dejavniki (spol, starost, ITM preiskovanca),
- Fizična aktivnost preiskovanca pred odvzemom (vpliv na metabolizem – sestavo krvi),
- Nosečnost,
- Kronobiološki dejavniki (cirkadialni, mesečni in letni ciklusi za posamezne analite).

Zunanji dejavniki

- Teščost (prehranjevanje, uživanje alkohola, kajenje),
- Zdravila, ki jih jemlje preiskovanec,
- Položaj v katerem je preiskovanec med odvzemom (ležeč, sedeč – v slednjem se zmanjša volumen plazme v žilju).

Predanalitični dejavniki, ki so povezani z delom v laboratoriju

- Odvzem krvi,
- Transport vzorcev, priprava in hranjenje vzorcev za analizo.



Slika 14: Biološki vplivi na analite v vzorcu venske krvi. Vpliv fizičnega napora, položaja med odvzemom in zdravil na analite (1).

Priporočeni čas odvzema je med 7. in 9. uro zjutraj na tešče, ker so bili takrat odvzeti tudi vzorci, uporabljeni za določitev referenčnih vrednosti (Slika 1). Teščost pomeni 12 ur po zadnjem obroku z izjemo pitja vode, medtem ko na dan odvzema preiskovanec ne sme piti kave, čaja, energijskih pijač, alkohola (24 ur pred odvzemom) in ne sme kaditi. V primeru, da preiskovanec ni tešč, je potrebno to dokumentirati in upoštevati pri interpretaciji rezultatov (ne-teščost ima velik vpliv na TG, glukozo). Preiskovanci s kroničnimi boleznimi se po navadi ne morejo izogniti jemanju zdravil, zato je v takšnem primeru priporočen odvzem venske krvi tik pred naslednjim odmerkom zdravila.

Najpogostejše napake pri odvzemu so neustrezno polnjenje epruvet, hemoliza vzorca, odvzem v epruveto z napačnim dodatkom, nepravilna identifikacija pacienta ali vzorca, koaguliran vzorec, kontaminacija in nastanek hematoma.

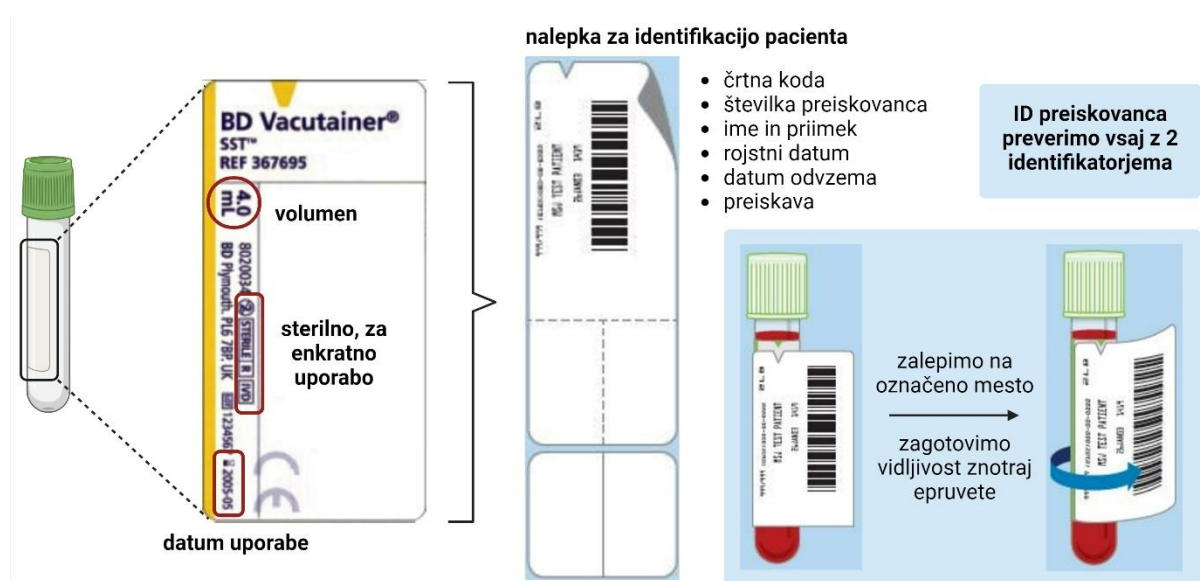
Material in pribor za odvzem venske krvi

- Rokavice
- Igle (sterilne, dvostranske, obojestransko zaščitene, namenjene izključno enkratni uporabi)
- Epruvete brez ali z različnimi dodatki (zaprt, vakuumski način odvzema)
- Plastični nosilec z navojem za iglo
- Žilne preveze (priporočene preveze brez lateksa za enkratno uporabo, obstajajo pa tudi velcro preveze za večkratno uporabo s sponko)
- Antiseptična sredstva (70 % etanol, 70 % izopropanol, klorheksidin glukonat itd.)
- Tamponi, obliži, povoji (zloženci in tamponi iz gaze, povoji so lahko iz gaze ali pa elastični hipoalergeni povoji)
- Zbiralniki za odpadke (ločeni zbiralniki za: ostre kužne odpadke (igle z nastavkom), preostali medicinski material (rokavice, tamponi) in druge odpadke (papir, plastika)).

Epruvete

Za odvzem venske krvi uporabljamo zaprti vakuumski sistem, ki zmanjša tveganje za stik krvjo (Slika 2). Epruvete vsebujejo takšen podtlak, ki omogoči pritok točno določenega volumna krvi v epruveto in s tem se zagotovi pravilno razmerje med krvjo in dodatkom v epruveti. Dodatki v epruveti so učinkovine, ki imajo različne naloge:

- Anti-koagulant preprečujejo strjevanje krvi (ločeno spodaj celice, zgoraj plazma),
- Pospeševalci pospešijo nastanek koaguluma (spodaj koagulum, zgoraj serum),
- Stabilizatorji analitov ali celic v krvi (povečajo stabilnost različnih analitov, npr. RNA, proteinov).



Slika 15: Ustrezna namestitev nalepke za identifikacijo preiskovanca na epruveto za odvzem venske krvi (prirejeno po 2,3).

V spodnji preglednici so razporejene barve zamaškov epruvet glede na vrstni red odvzema. Najprej vzamemo kri za bakterijske kulture iz krvi, na koncu pa za elemente v sledovih. Vrstni red odvzema je pomemben, da zagotovim kakovost vzorca in da ne pride do navzkrižne kontaminacije dodatkov med epruvetami.

Posebnosti:

Postopek odvzema za hemokulture mora potekati pod aseptičnimi pogoji. Hemokultura je mikrobiološki postopek izolacije bakterij iz krvi, pri katerem uporabljamo posebna gojišča ogreta na sobno temperaturo v temu namenjenih stekleničkah. Vzorce krvi inokuliramo v dve steklenički (prva je steklenička za aerobne in druga po vrsti je steklenička za anaerobne bakterije).

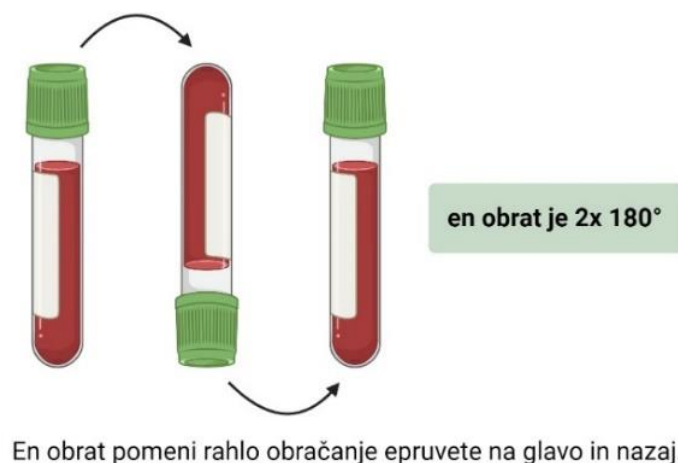
Preglednica 1: Priporočeni vrstni red epruvet za odvzem venske krvi (povzeto po 4,5).

barva zamaška		vrsta dodatka	matriks	namen uporabe	Mešanje (št. obratov)
steklenička		gojišče + SPS (Sodium Polyanethole Sulfonate)	kri v gojišču	aerobne/anaerobne bakterije	8–10
					
		Na ₃ citrat 0,105 – 0,109 M [3,13 – 3,2 %]	polna kri ali plazma	preiskave hemostaze/koagulacija	3–4
		Na ₃ citrat 0,129 M [3,5 %]	polna kri	sedimentacija	8–10
		pospeševalec koagulacije	serum	biokemične preiskave	5–6
		pospeševalec koagulacije + ločilni gel	serum	biokemične preiskave	5–6
		trombin + ločilni gel	serum	biokemične preiskave – nujne preiskave	5–6
		Li ⁺ , Na ⁺ ali NH ₄ ⁺ heparinat	polna kri ali plazma	biokemične preiskave	8–10
		heparin + ločilni gel	plazma	biokemične preiskave	8–10
		K ₂ EDTA ali K ₃ EDTA	polna kri ali plazma	hemogram, analiza DNA	8–10
		K ₂ EDTA ali K ₃ EDTA	polna kri ali plazma	transfuzijske preiskave – navzkrižni testi	8–10
		fluorid/Na ₂ EDTA ali fluorid/oksalat	plazma	biokemične preiskave - laktat, glik. Hb, glukoza	8–10
		K ₂ EDTA ali Na ⁺ heparinat	polna kri ali plazma	elementi v sledovih	8–10

Mešanje vzorca v epruveti

Vzorec v epruveti začnemo mešati takoj po napolnitvi ustreznega volumna krvi. Posamezen dodatek ima predpisano priporočeno število obratov, ki zagotavljajo ustrezno mešanje odvzete krvi z izbranim dodatkom. Pri odvzemu krvi v več epruvet zapored jih premešamo takoj po napolnitvi z enim obratom, medtem ko pri odvzemu v eno epruveto le-to obrnemo petkrat oz. kot to priporoča proizvajalec.

Pri mešanju se moramo izogniti stresanju epruvete in neuravnoteženem mešanju, saj le-to lahko povzroči poškodbo krvnih celic, hemolizo in koagulacijo oz. aktivacijo trombocitov.



Slika 3: Pravilno mešanje epruvet (1).

Postopek odvzema venske krvi

Kri najpogosteje jemljemo iz srednje podlahtne vene (kubitalne), lahko pa jemljemo tudi iz cefalne in bazilične vene.

Odvzema nikoli ne izvajamo iz:

- Fistule ali roke z žilnim presadkom,
- Arterij,
- Ven na lateralni in palmalni notranji strani zapestja,
- Okuženih mest.

Ne priporoča se odvzem venske krvi:

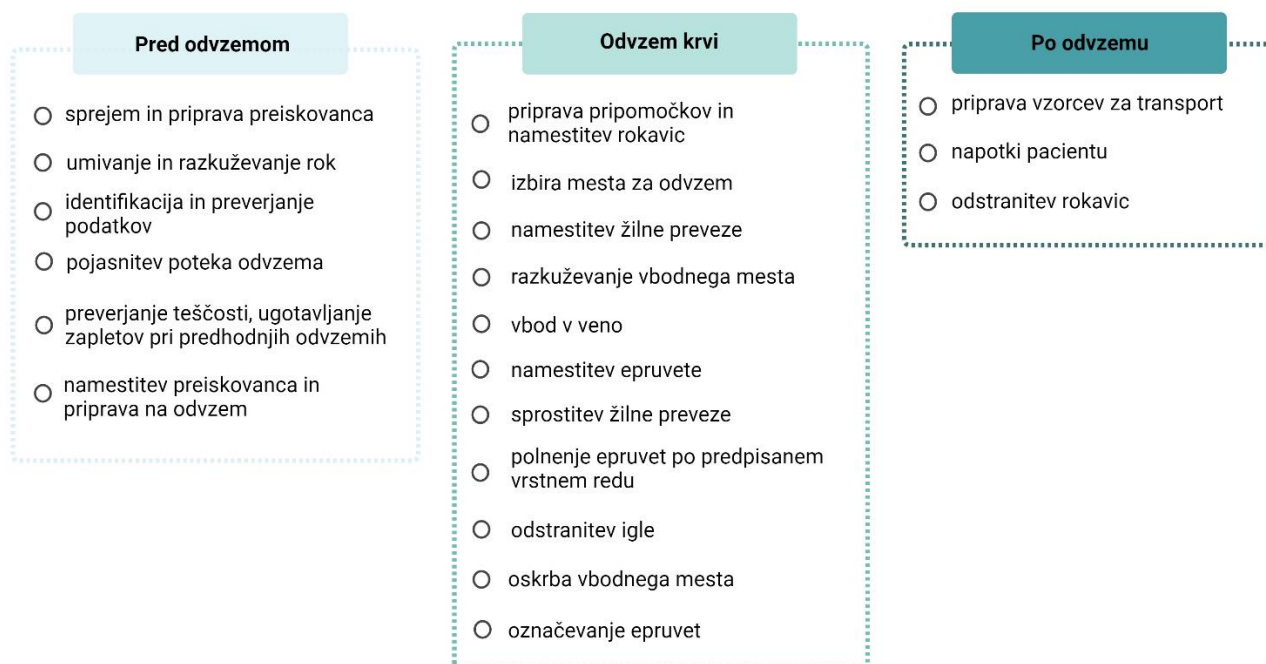
- Na zabrazgotinjenem območju, ki je posledica obsežnih opeklin
- Na mestu, kjer je hematoma
- Iz roke, kjer je nameščena kanila
- Iz vnetnih mest, vključno z mestom vnete tetovaže
- Iz otekle okončine
- Iz okončine prizadete zaradi kapi ali poškodbe

Izključno s pisnim dovoljenjem zdravnika izvajamo odvzem venske krvi iz:

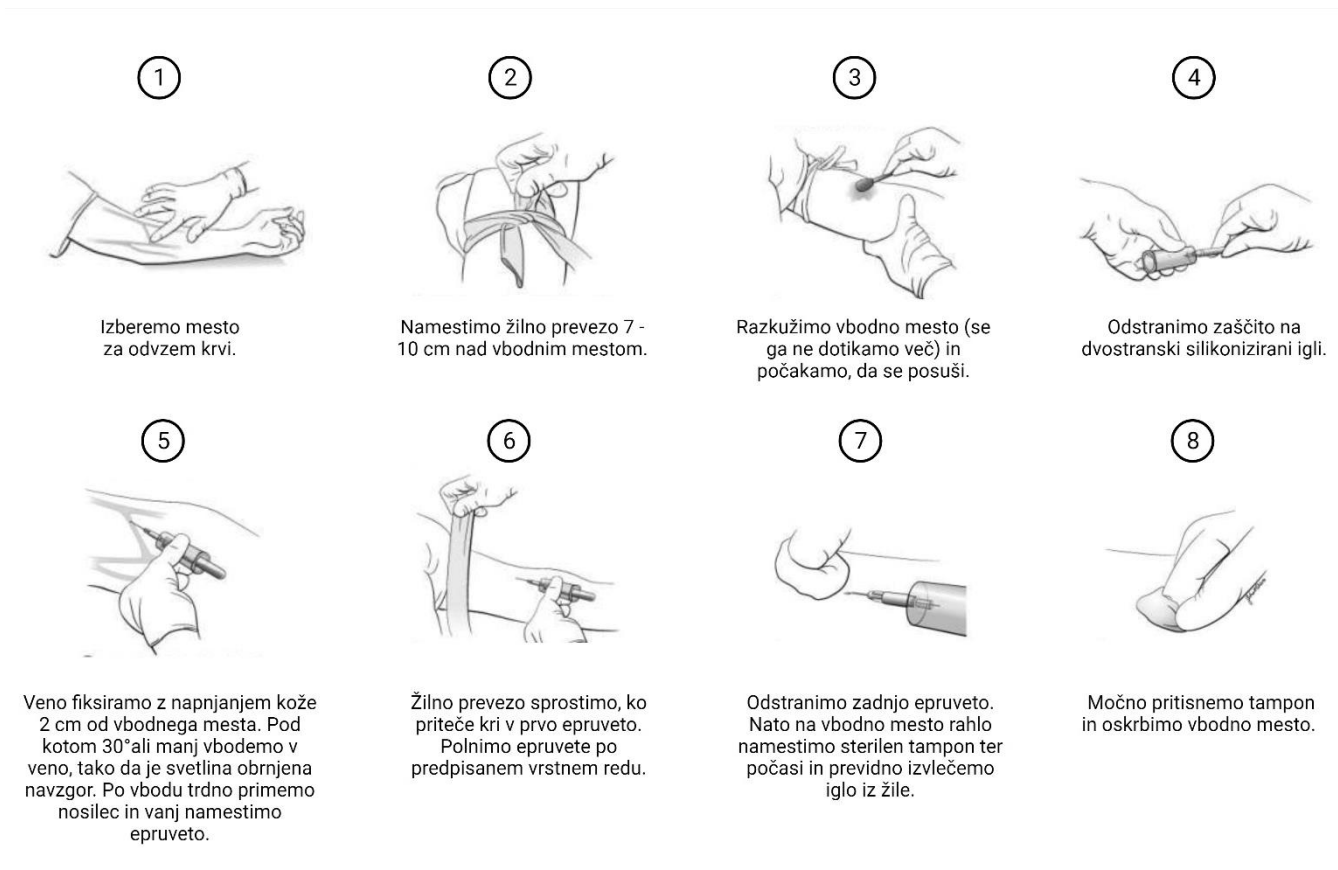
- Udov na strani, kjer je bila izvedena mastektomija

- Katerega koli dela spodnjih okončin

Vrstni red korakov pri odvzemu venske krvi je shematsko opisan in predstavljen na Slikah 4 in 5.



Slika 16: Vrstni red korakov pri odvzemu krvi (povzeto po 6).



Slika 17: Koraki odvzema venske krvi (prirejeno po 7).

Možni zapleti pri odvzemu krvi:

- Anemija (prepogosti odvzemi, večja količina odvzete krvi)
- Poškodba živca (neobičajna bolečina; otrplost okončine, tremor) ali arterije (svetlejša kri z močnim pritiskom priteče v epruveto)
- Nastanek hematoma
- Nastop slabosti (možnost bruhanja in pojav krčev)
- Neodzivnost pacienta, nezavest (takoj izvlečemo iglo, oskrbimo pacienta).

Hematom lahko preprečimo, če pazimo da:

- Ne prebodemo spodnje ali stranske stene žile
- Spustimo žilno prevezo takoj, ko nastavimo prvo epruveto
- Uporabimo igle predpisane velikosti (za odvzem pri otrocih so predpisane tanjše igle)
- Po odvzemu vbodno mesto oskrbimo z močnim pritiskom tampona ter uporabimo še povoj
- Pacient še nekaj časa ne obremenjuje roke.



Slika 18: Hematom po odvzemu (prirejeno po 8).

Hemolizo vzorca lahko preprečimo, če:

- Krvi ne jemljemo na mestu, kjer je nastal hematoma
- Pravočasno odstranimo žilno prevezo (nameščena manj kot minuto)
- Ne uporabljamo pretankih igel
- Vbodno mesto popolnoma osušimo
- Epruvet z odvzeto krvjo ne stresamo, ampak nežno obračamo po navodilih
- Poskrbimo za pravilen transport.

Video vsebine

Primer venskega odvzema krvi: <https://www.youtube.com/watch?v=Biwyjt3r07k>

Uradna spletna stran EFLM: <https://www.eflm.eu/site/page/a/1194>

Predlagana literatura

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Tubes and additives for Venous and Capillary Blood Specimen Collection; Approved Standard – Sixth Edition, CLSI document GP39-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007:17.
- World Health Organisation (WHO). Guidelines on Drawing Blood: Best Practices in Phlebotomy. WHO, 2010.
- Piskar M: Priporočeni postopek za odvzem venske krvi. SZKK, Ljubljana 1999.
- Snoj N, Prah Krumpak M: Priporočeni postopek za odvzem venske krvi. SZKK, Ljubljana 2021: 48.

Viri

1. BioRender, <https://app.biorender.com/user/signin>, 20.9.2023
2. Pdc Healthcare connectID blog, Let's Get it Straight – Blood Tube Label Alignment Matters, <https://blog.pdchealthcare.com/articles/laboratory/blood-tube-label-alignment-matters/>, 20.9.2023
3. Gribbles Pathology, Service catalogue 2021, <https://www.innoquest.com.my/wp-content/uploads/Service-Catalogue-March-2022.pdf>, 20.9.2023
4. Diagnostični laboratorij: Zdravstveni dom Sežana, Navodilo medicinskemu osebju za odvzem krvi in biološkega materiala, https://www.zd-sezana.si/slike/novosti/132_NAVODILO%20za%20odvzem%20krvi%20medicinskemu%20osebju.pdf, 20.9.2023
5. BD Vacutainer Tube Guide, <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=11068>, 20.9.2023
6. Snoj N, Prah Krumpak M: Priporočeni postopek za odvzem venske krvi, SZKK, Ljubljana, 2021: 48.
7. E Phlebotomy Training, Phlebotomy Procedure Step by Step, <https://www.ephlebotomytraining.com/phlebotomy-procedure/>, 20.9.2023
8. American Blood Clot Association, Hematomas, <https://bloodclot.org/hematomas/>, 20.9.2023

Odgovorite na vprašanja

1. Naštejte vsaj 5 različnih namenov odvzema venske krvi:

a)

b)

c)

d)

e)

2. Navedite 4 najbolj bistvene stvari pri odvzemu venske krvi:

a)

b)

c)

d)

3. Izpolnite tabelo.

barva epruvete	Dodatek	analiza	vrstni red
roza			
svetlo zelena			
rdeča			
svetlo modra			
vijolična			
črna			
zelena			
temno modra			
oranžna			

4. Po točkah opišite potek odvzema venske krvi.

5. Katere so najpogostejše napake PRED, MED in PO odvzemu venske krvi.

a) PRED:

b) MED:

c) PO:

Pregledal-a:

Datum:

Pripombe:

ODVZEM NOSNO-ŽRELNEGA BRISA IN VZORCA SLINE

Asist.dr. Dunja Urbančič, mag. farm

Pri vaji se boste seznanili z odvzemom nosno-žrelnega brisa drugemu preiskovancu, samo-odvzemom nosno-žrelnega brisa in odvzemom vzorca sline. Spoznali boste osnovne dele osebne varovalne opreme pri odvzemu infektivnega vzorca drugemu preiskovancu. Naučili se boste pravilno izvesti samo-odvzem nosno-žrelnega brisa. Spoznali boste namene odvzema nosno-žrelnega brisa in vzorca sline v diagnostične namene. Predstavili vam bomo metode vzorčenja sline. Naučili se boste ovrednotiti in utemeljiti pomen vsakega koraka pri pripravi na odvzem vzorca sline.

Odvzem kužnih ali potencialno kužnih vzorcev dihalnih poti

Ob odvzemu kužnih ali potencialno kužnih vzorcev je bistveno, da upoštevamo ustrezne varnostne ukrepe, ki preprečujejo prenos virusa ali drugega mikroorganizma z ene na drugo osebo. Ti vključujejo pravilno nošenje ustrezne osebne varovalne opreme, redno prezračevanje prostora in vzdrževanje razdalje, ko je le-to mogoče. Pogoji za odvzem brisa ali sline drugemu preiskovancu se nekoliko razlikujejo od pogojev, ki jim moramo zadostovati pri samo-odvzemu.

Previdnosti pri odvzemu vzorca drugemu preiskovancu:

Pomembno je, da oseba, ki odvzema nosno-žrelni bris ali sodeluje pri samo-odvzemu sline pri sumu na respiratorno infekcijo pri drugi osebi, nosi osebno varovalno opremo (1). Ta zajema:

- z obleko / haljo,
- laboratorijske rokavice,
- zaščitno masko in
- obrazni ščitnik/vezir ali zaščitna očala.

Potek namestitve osebne varovalne opreme (1):

1. Umijte si roke z milom in vodo (ali uporabite razkužilo, ki vsebuje etanol oz. drugo sorodno dezinfekcijsko sredstvo).
2. Oblecite zaščitno obleko /haljo.
3. Nadenite si dva para nesterilnih laboratorijskih rokavic: najprej daljše najlonske, nato še ene, lahko iz lateksa.
4. Nadenite si zaščitno masko z FFP2 ali FFP3.
5. Na koncu si nadenite obrazni ščitnik za zaščito obraza in oči.
6. Razkužite si roke.

Priporočeno je, da namestitev osebne varovalne opreme in njeno odstranjevanje spremlja in kontrolira druga oseba (opazovalec). Na ta način se prepričamo, da ni prišlo do spuščene koraka, kar bi lahko predstavljalo nevarnost kontaminacije.

Potek odstranjevanja osebne varovalne opreme (2):

1. Če jemljemo bris več osebam zaporedoma, menjavamo samo vrhnje rokavice. Zgornjo plast rokavic slečemo in zavržemo v koš za infektivne odpadke.
2. Razkužimo si spodnjo plast rokavic.
3. Snamemo zaščitno haljo z rokavicami tako, da se dotikamo samo notranjih površin osebne varovalne opreme.
4. Zaščitno haljo od znotraj zvijemo in zavržemo v infektivne odpadke.
5. Razkužimo si roke.
6. Odstranimo vezir in ga postavimo na mesto za razkuževanje.
7. Ponovno si razkužimo roke.
8. Snamemo zaščitno kapo.
9. Snamemo zaščitno masko, ne da bi se dotikali zunanje površine, jo odvržemo v koš za infektivne odpadke in si ponovno razkužimo roke.
10. Nadenemo sveže rokavice in razkužimo vezir.
11. Dobro si umijemo in razkužimo roke.

Previdnosti pri samo-odvzemu brisa ali vzorca sline:

Pri samo-odvzemu nosno-žrelnega brisa ali sline upoštevamo stroga načela osebne higiene in zaščite pred okužbo z respiratornimi virusi.

- V kolikor smo v prostoru, v katerem so tudi druge osebe, tekom postopka odvzema nosimo zaščitno masko.
- Roke si pred odvzemom umijemo z milom in jih razkužimo.
- Vsebino analiznega kompleta zložimo na čisto površino.
- Previdno rokujemo z vsemi deli analiznega kompleta, da preprečimo kontaminacijo.
- Po analizi porabljenega dela kompleta zavržemo v ustrezne odpadke.
- Razkužimo površino, na kateri smo izvajali postopek.

NOSNO-ŽRELNI BRIS

Odvzem vzorca s površine dihalne sluznice z nosno-žrelnimi brisi je postopek, ki se uporablja za določanje prisotnosti mikro-organizmov v zgornjih dihalnih poteh. Biološki vzorec nosno-žrelnega brisa se običajno odvzame pri sumu na oslovski kašelj, davico, gripo in različne vrste bolezni, ki jih povzročajo virusi iz družine koronavirusov, vključno s SARS in MERS (3,4). V zadnjem času se tovrstne vzorce uporablja tudi za diagnozo neinfektivnih bolezni, na primer za detekcijo pljučnega raka ali raka nosno-žrelne votline (5,6).

Za zbiranje vzorcev z brisi iz nazofarinksa ni posebnih kontraindikacij (7).

Previdnost je potrebna pri:

- poškodbi nosu ali po operaciji nosu,
- izrazito deformiranem nosnem septumu,
- kronično zamašenih nosnih poteh ali
- hudi koagulopatiji.

Nosno-žrelni bris je izdelan iz dolge, fleksibilne paličice iz plastike ali kovine, na koncu katere je konica iz poliestra, rajona ali najlona.

Postopek odvzema nosno-žrelnega brisa (7,8):

1. Pred začetkom odvzema očistimo delovno površino.
2. Nošenje mask je obvezno za vse preiskovance, ki so v prostoru z drugimi osebami.
3. Pred odvzemom mora preiskovanec izpihati odvečne izločke iz nosnih poti.
4. Preiskovanec si odstrani masko z nosu.
5. Preiskovanec glavo rahlo nagne nazaj, tako da postanejo nosni prehodi bolj dostopni. Ob odvzemu je priporočljivo, da preiskovanec zapre oči, s čimer se zmanjša nelagodje pri posegu.
6. Bris nežno vstavite v nosnico vzdolž nosnega septuma, tik nad dno nosnega prehoda v nazofarinks, vzporedno z nebom, dokler ne začutite upora. Če začutite odpor pri prehodu brisa, bris umaknite in ga poskusite znova vstaviti pod drugim kotom, bližje dnu nosnega kanala. Bris mora doseči globino, enako razdalji od nosnic do zunanje odprtine ušesa – vsaj 2,5 cm globoko.
7. Bris pustite na mestu nekaj sekund, da absorbira izločke. Najbolje je, da ga 3-4-krat zavrtite na najglobljem mestu.
8. Nato bris počasi odstranite, medtem ko ga vrtite.
9. Preiskovanec naj si ponovno nadene masko.

Rokovanje z vzorcem

A) po odvzemu drugemu preiskovancu:

V kolikor vzamemo vzorec nosno-žrelnega brisa drugemu preiskovancu, bris vstavimo v vsebnik za bris (epruveto). Označen vsebnik z brisom zapremo in ga obrišemo z razkužilnim robčkom. Vsebnik z brisom vstavimo v odprto vrečko za biološko nevarnost, ki jo drži sodelavec. Vrečko do prenosa na mesto analize hranimo na hladnem (9, 10).

Pri odstranitvi osebne varovalne opreme najprej odstranite obleko in rokavice ter jih odvrzite med potencialno infektivne odpadke. Očistite si roke z milom in vodo ter razkužilnim sredstvom. Nadenite si nov par rokavic, nato odstranite obrazni ščitnik in masko. Masko zavrzite med potencialno infektivne odpadke. Ščit zavrzite ali pa ga razkužite in shranite za ponovno uporabo. Odstranite rokavice. Umijte si roke ter jih ponovno razkužite. Nadenite si svežo masko (9, 10).

B) po samo-odvzemu – primer hitrega antigenskega testa (9, 10):

1. Pri samo-odvzemu sledimo navodilom izvedbe hitrega antigenskega testa (HAT).
2. Odpremo epruveto z reagenčno tekočino.
3. V reagenčno tekočino pomočimo odvzet nosno-žrelni bris in ga 3-4-krat zavrtimo. Ob odstranitvi brisa iz epruvete stisnemo in s tem posnamemo zaostalo vsebino brisa v reagenčno tekočino.
4. Odpremo kaseto za izvedbo HAT.
5. Na mesto za nanos vzorca nanese 3 kapljice reagenčne tekočine, ki smo ji dodali vzorec.
6. Počakamo 15 minut. Pri tem mora biti kaseto za HAT položena na vodoravno površino in se je ne sme premikati.
7. Po 15 minutah odčitamo rezultat v testnem okencu.
8. Vse sestavine kompleta za izvedbo odvzema nosno-žrelnega brisa in HAT zavrzemo v odpad.
9. Razkužimo površino, na kateri smo izvajali samo-odvzem vzorca in HAT.
10. Roke si umijemo z milom in jih razkužimo.

ODVZEM VZORCA SLINE

Slina je biološki vzorec, ki se v zadnjem času vse več uporablja v laboratorijski diagnostiki pri spremljanju bolnikov z boleznimi ustne votline, kot tudi bolnikov s sistemskimi boleznimi. Prednost tega biološkega vzorca je, da je njegovo zbiranje in shranjevanje relativno enostavno. Predstavlja dober biološki vzorec za zgodnje odkrivanje nekaterih bolezni, saj vsebuje specifične topne biološke označevalce. Analiti, ki jih lahko določamo v slini vključujejo:

- Hormone
- Steroidne hormone (kortizol, spolni hormoni)
- Protitelesa
- Rastne faktorje
- Kemokine in citokine
- Nukleinske kisline (DNA in RNA)
- Proteine
- Ksenobiotike (droge, etanol, psihotropne učinkovine, antibiotiki, bronhodilatatorji, protivnetna zdravila itn.)
- Mikroorganizme

S pomočjo analize teh diagnostičnih označevalcev lahko odkrijemo mnoge bolezni kot so Addisonova bolezen, nepravilnosti v menstrualnem ciklu, različna rakava obolenja (rak pankreasa, rak dojke, rak ustne votline), sladkorna bolezen, infekcijske bolezni (virusne, bakterijske, glivne in parazitne), alergijske reakcije in druge. Z analizo zdravilnih učinkovin in njihovih metabolitov v slini lahko spremljamo uspešnost zdravljenja (11,12).

Metode vzorčenja sline

Vzorec sline lahko pridobimo na več načinov. Pri nekaterih odvzemih je potreben npr. vbod v žlezo slinavko ali namestitev posebne (t.i. Lashley-jeve) posodice na območje žlez, skozi katerega se nato steka slina. Te odvzeme izvede zdravnik oz. posebej za to usposobljeno osebje. Nekatere odvzeme polne sline pa lahko izvede preiskovanec sam. Poznamo več metod tovrstnega vzorčenja sline. V preglednici 1 so zbrane nekatere metode vzorčenja sline in njihove značilnosti. Pri vaji si bomo pogledali odvzem vzorca sline s pljuvanjem (11,12).

Preglednica 1. Povzetek prednosti in pomanjkljivosti posamezne metode vzorčenja sline (11,12).

Metoda vzorčenja	Prednosti	Pomanjkljivosti
Pasivno slinjenje (v epruveto preko lija)	• ni vpliva pretoka sline • posnema osnovno nestimulirano izločanje sline	• nehomogenost vzorca • dolgotrajno • preiskovanec mora biti sposoben sodelovati
Pljuvanje (v lij, v slamico ali direktno v epruveto)	• zmanjšano izhlapevanje sline • primerno za preiskovance s počasnejšim slinjenjem	• možni učinki stimuliranega izločanja sline • preiskovanec mora biti sposoben sodelovati
Bris (najlonski, rajonski, s pomočjo tamponov)	• nizka cena • dostopen • enostavna uporaba • za preiskovance, ki slabše sodelujejo • homogenost vzorca • možno določiti hitrost izločanja sline	• možna vezava analita na bris • možni učinki stimuliranega izločanja sline • tveganje za zaužitje brisa
Grgranje	• cenovno ugoden • hitro, enostavno • ni težav z nizkimi količinami sline	• nižje koncentracije analitov • proizvodnje infektivnih aerosolov • preiskovanec mora biti sposoben sodelovati
Posušena kaplja sline	• potrebna majhna količina sline	• možen razpad analita • interakcije med analitom in materialom

Vplivi na kakovost sline

Na spremembe analitov v slini kot biološkem vzorcu vplivajo številni parametri (11–13).

- **Čas zbiranja.** Sproščanje večine hormonov sledi cirkadianemu ritmu. Kortizol se npr. povečano sprošča zjutraj, medtem ko je nivo melatonina največji zvečer pred spanjem. Kortizol bo imel zato najvišjo koncentracijo v slini zjutraj, melatonin pa zvečer.

Ali ste vedeli? Slina je biološki vzorec izbora za analite, ki imajo velike amplitude cirkadianih ritmov. V primeru tovrstnih analitov je namreč potrebno vzorčiti večkrat v istem dnevu ob različnih časih. V teh primerih je večkratni odvzem sline za bolnika veliko bolj prijeten kot večkratni odvzem krvi.

- **Mesto zbiranja** (v primeru brisov). Pripomočki, kot so brisi ali tamponi, zbirajo slino na eni lokaciji znotraj ustne votline, kar je pomemben podatek za določene analite, ki se povečano nahajajo samo na določenih mestih. Najbolje je zbirati slino na dnu ustne votline oz. na drugih mestih, kjer se slina zadržuje.
- **Hitrost izločanja sline.** Količina nekaterih analitov v slini, še posebej tistih, ki so hidrofilni (določeni proteini, protitelesa ali encimi), se zniža, če pospešimo hitrost izločanja sline.
- **Volumen sline.** Za analite, ki se v slini nahajajo v izredno nizkih količinah, je potreben odvzem večjega volumna sline. Pomagamo si lahko z stimulantmi izločanja sline. Večina analiznih metod je sicer zelo občutljivih in ne potrebuje velike količine vzorca sline.
- **Kontaminacija s krvjo.** V centralnem krvnem obtoku je koncentracija večine analitov precej višja kot v slini, zato v primeru ran v ustni votlini lahko pride do lažno povišanih vrednosti analita v slini in napačne diagnoze.
- **Metoda vzorčenja.** Nekateri analiti se lahko analizirajo izključno v slini, pridobljeni z metodo pasivnega slinjenja ali pljuvanja. Tudi odvzemi z različnimi brisi se lahko med seboj razlikujejo. Za analizo kortizola npr. obstajajo posebni brisi, ki so primerni samo za merjenje tega analita. Če bi z njimi odvzeli slino in v njej merili drug analit (npr. testosteron), bi dobili napačne rezultate.
- **Shranjevanje vzorca.** Najbolje je, če vzorec sline takoj po odvzemu analiziramo oz. zmrznemo. Na to moramo biti še posebej pozorni pri na temperaturo občutljivih analitih. Za analizo nekaterih bolj stabilnih analitov je dovolj, da vzorec sline je po odvzemu shranjujemo na ledu.
- **pH vzorca.** Uživanje hrane bogate z ogljikovimi hidrati ali kofeina zniža pH sline. Kisel pH lahko zavre analizno reakcijo določanja nekaterih analitov ali poda lažne rezultate. V nekaterih primerih je v vsebnik (v katerega zbiramo slino) že dodana stabilizacijska raztopina. Ta omogoča reguliranje pH.
- **Redčenje sline.** Včasih je v epruveto, v katero pljuvamo že dodana t.i. stabilizacijska raztopina. Prav tako pri metodi z grgranjem redčimo slino s fiziološko raztopino. V omenjenih primerih moramo paziti, da z njimi ne razredčimo vzorca preveč, saj se nam s tem zniža koncentracija analitov.

Zahteve pred odvzemom vzorca sline

Zaradi omenjenih vplivov na lastnosti vzorca sline, je potrebno pred njegovim odvzemom upoštevati nekaj ključnih korakov (11–13).

- Dan pred odvzemom sline ne načrtujmo obiska pri zobozdravniku.
- 30 min pred vzorčenjem sline:
 - ne jemo,
 - ne pijemo,
 - ne kadimo in ne uporabljamo elektronskih cigaret (vejpov),
 - ne žvečimo žvečilk,

- si ne umivamo zob,
- ne uporabljamo ustne vode,
- si ne nanašamo kozmetike na ustnice.
- Roke si pred odvzemom umijemo z milom in vodo ter si jih po potrebi razkužimo.
- Zmasiramo lica in pomislimo na nam ljubo hrano, da stimuliramo nastajanje sline. Poskusimo ostati sproščeni. Ta korak izvajamo do 5 min. Med tem korakom ne požiramo sline.
- Ko oddajamo slino v vsebnik, nagnemo glavo naprej, ne naprezamo se pri pljuvanju sline, med pljuvanjem ne kašljamo.
- V vsebnik zberemo samo toliko sline, kot je predpisano.

Kako postopamo po odvzemu vzorca sline

Epruveto s slino zapremo in jo obrišemo z razkužilnim robčkom. Pomembno je, da epruveto označimo. V kolikor imamo infektivne vzorce, epruveto s slino vstavimo v odprto vrečko za biološko nevarnost. Vrečko do prenosa na mesto analize hranimo na hladnem (9,10).

Video vsebine

- *Prikaz nameščanja in odstranjevanja osebne varovalne opreme:*
<https://www.zbornica-zveza.si/clanek/prikaz-namescanja-in-odstranjevanja-mask-umivanje-razkuzevanje-rok-ter-oblacenje-in-slacenje-osebne-varovalne-opreme/>
- *Odvzem nosno-žrelnega brisa:* <http://www.imi.si/diagnosticna-dejavnost/prikaz-odvzema-brisa-nosnega-dela-zrela>
- *Odvzem vzorca sline:*
<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A50696>

Viri

1. Zbornica Zveza [dostopano 1 Aug 2024]. Zbornica Zveza. Available from: <http://www.zbornica-zveza.si/>
2. Središče znanj - UKC Ljubljana [dostopano 1 Aug 2024].
https://www.kclj.si/index.php?dir=/strokovna_javnost/sredisce_znanj&id=5190
3. Ibrahim F, Natasha A, Yasmon A, Rizal CT, Fithriyah, Karuniawati A, et al. Evaluation of SARS-CoV-2 quantification from oropharyngeal swabs, nasopharyngeal swabs, and naso-oropharyngeal swabs: A cross-sectional study. *Heliyon*. 2024. Apr 15;10(7). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28647>
4. Nasal swabs are the painless way to diagnose viral respiratory infection. *J Clin Pathol*. 2002 Sep;55(9):709.
5. Lamb CR, Rieger-Christ KM, Reddy C, Huang J, Ding J, Johnson M, et al. A Nasal Swab Classifier to Evaluate the Probability of Lung Cancer in Patients With Pulmonary Nodules. *Chest*. 2024 Apr;165(4):1009–19. DOI: 10.1016/j.chest.2023.11.036
6. Tabuchi K, Nakayama M, Nishimura B, Hayashi K, Hara A. Early Detection of Nasopharyngeal Carcinoma. *Int J Otolaryngol*. 2011;2011:638058. DOI: 10.1155/2011/638058
7. Marty FM, Chen K, Verrill KA. How to Obtain a Nasopharyngeal Swab Specimen. *New England Journal of Medicine*. 2020 May 28;382(22):e76. DOI: 10.1056/NEJMc2010260
8. Odvzem brisa pri sumu na okužbo s koronavirusom SARS-CoV-2. 2020 [dostopano 1. Avg. 2024].
<https://www.youtube.com/watch?v=VqhQJG7JX1g>
9. Preprecevanje-prenosa-okuzbe-z-virusom-SARS-CoV-2-in-uporaba-osebne-varovalne-opreme. 2021 [dostopano 1. Avg. 2024]. <https://www.gov.si/assets/ministrstva/MZ/DOKUMENTI/Koronavirus/Domovi-za-starejse-in-drugi-socialno-varstveni-zavodi/Preprecevanje-prenosa-okuzbe-z-virusom-SARS-CoV-2-in-uporaba-osebne-varovalne-opreme-19.-9.-2021.pdf>
10. Priporočila za odvzema brisa za respiratorno diagnostiko morebitne okužbe z virusom SARS-CoV-2. 2021 [dostopano 1. Avg. 2024]. <https://www.zbornica-zveza.si/wp-content/uploads/2021/03/Priporo%C4%8Dila-za-odvzema-brisa-za-respiratorno-diagnostiko-morebitne-oku%C5%BEbe-z-virusom-SARS-CoV-2-8.3.2021.pdf>
11. Malamud D, Rodriguez-Chavez IR. Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dent Clin North Am*. 2011 Jan;55(1):159–78. DOI: 10.1016/j.cden.2010.08.004
12. Saliva sampling: Methods and devices. An overview. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2020 Mar 1;124:115781. DOI: 10.1016/j.trac.2019.115781
13. Designing Your Salivary Bioscience Study. *Salimetrics*. [dostopano 1. Avg. 2024].
<https://salimetrics.com/designing-saliva-research-studies/>

Nameščanje in odstranjevanje osebne varovalne opreme

Na vaji si boste ogledali video nameščanja in odstranjevanja osebne varovalne opreme.

1. Kateri so glavni deli osebne varovalne opreme?

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

2. Zapišite potek namestitve osebne varovalne opreme.

3. Zapišite potek odstranjevanja osebne varovalne opreme.

4. Praktično izvedite nameščanje in odstranjevanje osebne varovalne opreme.

☐ označi asistent /-ka

Odvzem nosno-žrelnega brisa

Na vaji si boste ogledali video odvzema nosno-žrelnega brisa.

1. Naštete vsaj 3 indikacije za odvzem nosno-žrelnega brisa.

1. _____
2. _____
3. _____

2. Opišite postopek odvzema nosno-žrelnega brisa.

3. Dvakrat izvedite odvzem nosno-žrelnega brisa na simulacijskem modelu.

☐ ☐ označi asistent /-ka

Odvzem vzorca sline

Na vaji si boste ogledali video odvzema vzorca sline.

1. Naštejte vsaj 4 analite, ki jih lahko določamo v vzorcih sline!

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____

2. Naštejte metode odvzema sline!

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

3. Kako naštetih parametri vplivajo na kakovost odvzema sline?

Čas zbiranja.

Mesto zbiranja (v primeru brisov).

Kontaminacija s krvjo.

Metoda vzorčenja.

Shranjevanje vzorca.

pH vzorca.

Redčenje sline.

4. Praktično izvedite odvzem okoli 0,5 ml vzorca sline v 1,5-ml epruveto pred in po jedi. V eno epruveto po jedi pred odvzemom odpipetirajte 200 μ L stabilizacijske raztopine. Kako se spremeni pH odvzete sline, če le-ta ni odvzeta pred hrano? Kako vpliva stabilizacijska raztopina na pH odvzete sline?

pH sline pred jedjo: _____

pH sline po jedi brez raztopine: _____

z raztopino: _____

Datum:

Pregledal:

Pripombe: