

616—036.11—074

LABORATORNÍ VYŠETŘOVÁNÍ AKUTNÍCH STAVŮ

II. Metodické postupy

Plk. MUDr. Josef VANČURÍK, CSc., pplk. MUDr. Vladimír FILIP, pplk. MUDr. Milan JERIE
oddělení klinických laboratoří Ústřední vojenské nemocnice v Praze
(náčelník: pplk. MUDr. Milan Jerie)

Stále stoupající požadavky na řádné biochemické vyšetření nemocného zvyšuje počet rutinních analýz v klinických biochemických laboratořích. Tento vývoj vede postupně k mechanizaci, automatizaci a nakonec i k sériovým průmyslovým analýzám. Takový proces si vynucuje změnu i úpravu analytických metodik, ovlivňuje sběr biologického materiálu od nemocných, jeho zasílání do laboratoře a často i změnu laboratorní dokumentace. Automatizace biochemických analýz vede nevyhnutelně k „rigidnímu“ systému. Snaha o tzv. „flexibilní“ — tj. snadno přestavitelné automaty není východiskem. Proto se stále konkrétněji rýsuje nutnost existence pružné „statimové“ laboratoře, pracující paralelně vedle laboratoře sériových rutinních analýz.

Nebereme-li v úvahu běžné zneužívání statimových vyšetření z nejrůznějších důvodů, hlavním důvodem urgentních vyšetření je potřeba znát rychle výsledek pro včasné stanovení diagnózy a zahájení adekvátní terapie. Často se při tom toleruje i menší přesnost

metody. Metodika vyšetřování u expresních metod bývá odlišná, a proto se často i výsledné hodnoty uvádějí v jiných jednotkách než při základních analýzách. Tato situace při znalosti výsledků obou metodik není však na závalu pro klinickou potřebu.

Zjednodušené a zrychlené postupy často vyžadují i odlišné přístrojové vybavení. Moderní klinická biochemie opustila princip jednotlivých vyšetření a závěry dělá z celého souboru analýz. Princip souborového (skupinového) vyšetření by měl být zachován i u urgentních vyšetření. Jde-li o vážnou poruchu acidobazické rovnováhy, je vyšetření jejich parametrů neúplným obrazem stavu pacienta a má být vždy doplněno vyšetřením Na a Cl v krvi, ev. i osmolality krve. Jedině řádným vyšetřením v souboru lze předejít opakovaným a neúplným analýzám a spolupráce ošerujícího lékaře s laboratorním pracovníkem je nezbytná.

Jako akutní biochemická vyšetření se provádějí nejčastěji Na, K, Cl, močovina, kreati-

nin, glykémie, amyláza, transaminázy, alkalické fosfatázy a bilirubin. Za vyšetření jako statim neindikované považujeme elektroforézu bílkovin. V úvahu přichází celková bílkovina nebo albumin, kreatinfosfokináza a acidobazická rovnováha, často i s určením osmolality a základní hematologické vyšetření — hemoglobin, hematokrit, leukocyty, srážlivost. K akutnímu vyšetření patří pochopitelně i vyšetření moči.

Nejjednodušší jsou papírkové metody. Papírky jsou impregnovány vhodnou reagenční směsí s indikátorem a lze jimi určovat řadu sloučenin v moči a krvi. Téměř všechny tyto papírky jsou u nás dostupné. Firma Ames připravila řadu kombinovaných indikačních papírků, s nimiž se dá provést současně více vyšetření. Princip reakcí je popsán ve firemních návodech.

Papírky Albustix	určují v moči bílkovinu
Hemastix	krev
Ketostix	ketolátky
Hema-Combistix	pH, bílkovinu, krev, glukózu
Bili-Labstix	dtto + ketolátky a bilirubin
Multistix	dtto + urobilinogen

Z papírků firmy Boehringer jsou cenné N-Combust Test. Na jednom testacím proužku se zjišťuje pH, bílkovina, glukóza v moči a současně přítomnost nitritů při bakteriurii (diagnóza pyelonefritidy a cystitis). Podobné indikátorové papírky vyrábí i východoněmecká firma Germed, z nichž pro statimové vyšetření je důležitý Biophan 3 (určuje současně pH, bílkovinu a cukr). Rovněž naše firma Lachema dává do prodeje několik druhů indikátorových papírků. Pro statimové vyšetření se hodí AG-Phan (stanovení bílkoviny, glukózy a pH v moči).

Pomocí papírků lze také vyšetřit hladinu glykémie a orientovat se o případném diabetickém nebo hypoglykemickém komatu. Firma Ames připravila papírky Dextrostix, pomocí kterých během jedné minuty lze ponořením do kapilární krve stanovit glykémie v hodnotách 50—100—150—200—250 mg%. Ke stejnému účelu lze použít i papírky Dextronal (Germed), které mohou stanovit glykémii až do hladiny 800 mg%. Tyto papírky jsou ovšem spíše vhodné pro linii prvního kontaktu než pro vlastní biochemickou laboratoř, neboť současné metody enzymatické s dianizidinem nebo kolorimetrické s o-toluidinem, prováděné ve stabilních laboratořích, jsou dostatečně rychlé, jednoduché a přesné.

Pro rychlé stanovení močoviny v krvi lze použít papírky Azostix (Ames), které umožní určit močovinu v krvi v koncentraci 20—45—85—130 mg%. Papírky Urenal (Germed)

určí jenom hladinu „normální — lehce zvýšenou — zvýšenou — zřetelně zvýšenou“. Ve většině laboratoří se však používá souprava Urastrat (Gödecke), kterou lze pohodlně během půl hodiny stanovit hladiny do 160 mg% močoviny s přesností 5 mg%. Musí se však pracovat s originálními zkuševkami. Metoda využívá štěpení močoviny ureázou a podle množství močoviny se indikační proužek zabarví do různé výše. Pro většinu požadovaných vyšetření je přesnost a rozsah metody dostačující. Obdobně je složena i souprava Merckognost Harnstoff (Merck).

Kreatinin, bilirubin a amyláza se stanovují metodami běžnými při rutinních analýzách krve. Pro kreatinin a bilirubin lze s výhodou použít soupravu Bio-La-Test Lachema.

U složitějších reakcí, zejména při vyšetření enzymů, přichází v úvahu tzv. monotesty. Jde o přípravky, které ve formě tabletky nebo lyofilizovaného obsahu lahvičky po přidání destilované vody dávají roztok potřebný k požadovanému stanovení s dostatečnou přesností a reprodukovatelností. U nás jsou dosažitelné monotesty firem Boehringer a Gödecke. Jde zejména o enzymy, které se nejčastěji vyžadují jako statimové reakce, tj. transaminázy — hlavně SGPT (pro diferenciální diagnostiku infekční hepatitidy a ev. i jaterního komatu), v některých laboratořích i kreatinfosfokináza (CPK) a někdy i alkalická fosfatáza (k diagnóze obstrukčních žloutenek).

Při těchto urychlených testech se používají vesměs kinetické reakce s měřením v ultrafialové oblasti (366 nanometrů nebo 340 nanometrů — optický test) namísto kolorimetrických reakcí typu end point. Má-li laboratoř vhodný fotometr se zdrojem UV světla, je toto stanovení enzymatické aktivity jednoduché, vyšetření je hotovo během 10 minut a osvědčuje se zejména tam, kde je nedostatek laboratorního personálu. Výsledky se uvádějí v mezinárodních jednotkách U a v laboratořích, kde výsledky transamináz SGPT a SGOT se udávají v mikromolech, je nutné mít dvojí referenční hodnoty a ev. i pacienta ve vhodnou dobu opětovně vyšetřit rutinní metodou. Orientační přepočty z hodnot v mikromolech na jednotky U se děje násobením faktorem 15, při převodu jednotek U na mikromoly násobením faktorem 0,06. Vzájemná shoda mezi oběma typy reakcí je asi do 60 U, tj. přibližně 3,6 mikromolu.

Monotesty firmy Boehringer pracují na základě klasického optického testu. Všechny reagentie pro jedno vyšetření jsou v jedné lahvičce, rozpustí se přidáním redestilované vody a po zahřátí roztoku na 25 °C se reakce startuje pouhým přidáním séra. Ve fotometru se absorbance odečítá v několika časových intervalech a její změna za 1 minutu vynásobená faktorem dává konečný výsledek.

Vyšetření kreatinfosfokinázy u infarktu myokardu není však dnes nutné provést okamžitě. Diagnostické soupravy (např. Monotest

CPK Boehringer) obsahují redukční činidlo (glutathion), které redukuje oxidované disulfidické můstky (-S-S-) kreatinfosfokinázy v séru a tím ji inaktivují. Dodrží-li se doba 5 minut aktivace před vlastním měřením, dává souprava CPK Monotest dostatečně citlivé výsledky.

Celkem vzácně se vyžaduje urychlené vyšetření alkalické fosfatázy. Vhodná je souprava Phosphatabs Alkaline Gödecke, která v malé krabičce z plexiskla obsahuje stojánek se zkumavkami, reagentie, tablety se substrátem a srovnávací barevnou stupnici k orientačnímu hodnocení.

Tyto metody rychlého a jednoduchého stanovení enzymů optickým testem vyžadují vhodný fotometr s UV oblastí.

Celkovou bílkovinu je možné zjišťovat metodami běžně zavedenými v laboratoři (refraktometricky, reakcí s biuretovým činidlem). Přesnější informaci o akutních stavech spojených s proteinovým metabolismem (ztráty bílkovin, kachexie) dává stanovení albuminu bromkresolovou zelení [1]. Současné stanovení celkové bílkoviny a albuminu s výpočtem A/G kvocientu představuje základní vyšetření krevních bílkovin a většinou nahradí elektroforézu.

Vyšetření minerálů — sodíku a draslíku — v krvi a moči se provádí v našich laboratořích plamenovou fotometrií. Moderní plamenové fotometry (např. Radiometer FLM 2) pracují s malým vzduchovým kompresorem, dvoukilovými bombami na čistý propan, s vnitřním lithiovým standardem a automatickým dilutorem. Jsou vybaveny číslicovým ukazatelem výsledků a koncentrace Na a K v krvi i moči lze stanovit rychle a jednoduše. Tyto přístroje jsou velmi vhodné pro statimové vyšetření.

Statimové vyšetření chloridů, které patří do minerálového souboru, se děje běžnými metodami — merkurimetry, kolorimetry, chloridovým titrátozem. Upozorňujeme na málo používanou orientační metodu stanovení Cl v moči, vhodnou při těžkých hypochlorémích (Fantusův test): 10 kapek moči, 1 kapka 20% kaliumbichromátu, přidávat po kapkách 2,9% AgNO₃. Změna ze žluté do hnědé barvy znamená skončenou titraci chloridů. Kolik kapek, tolik gramů chloridů obsahuje moč v 1 litru. Při zhnědnutí po 1 kapce neobsahuje moč chloridy vůbec, do 3 kapek znamená značnou ztrátu soli v organismu, nad 5 kapek jsou hodnoty normální.

Vyšetření acidobazické rovnováhy a krevních plynů (pO₂ nejlépe z arteriální krve) a vyšetření osmolality krve a ev. i moče patří mezi vyšetření, která jsou důležitá v urgentních případech. Bez vhodných přístrojů nelze tato vyšetření provést. V improvizovaných polních podmínkách by toto vyšetření nebylo možné. Proto by každá laboratoř, pokud musí pracovat improvizovaně, měla zvládnout některou z modifikací titračního stanovení

alkalické rezervy (titrace bikarbonátů s fenylčervení, kyselinou solnou nebo dusičnou a louhem sodným). Výsledek získaný touto metodou je shodný s aktuálními bikarbonáty a poskytuje základní orientaci o acidobazickém stavu pacienta, zejména o jeho metabolické složce. Vyšetření osmolality lze nahradit výpočtem z hladiny Na, glukózy a močoviny podle některého vhodného vzorce, např.:

$$\text{osmol} = \text{Na} \times 1,86 + \frac{\text{glykémie}}{18} + \frac{\text{dusík močoviny}}{2,8} + 9$$

Rychlá toxikologická vyšetření (karbonyl-hemoglobin, barbituráty, fenothiaziny, salicyláty) se většinou neprovádějí v centrálních biochemických laboratořích, a proto se o nich podrobněji nezmiňujeme.

Péče o pacienta v resuscitační a intenzivní péči, který potřebuje akutní biochemické vyšetření, je vesměs dlouhodobá a další vyšetřování postupně přechází do základního provozu oddělení klinické biochemie. Nejčastěji je nutné sledování denní i hodinové diurézy, specifické váhy (osmolality) moče, balance iontů a dalších metabolických funkcí. Vyšetření potom plynule přechází do základní biochemické laboratoře, kde je třeba předem zajistit pravděpodobný rozsah a frekvenci vyšetření.

Podobně jako v biochemickém laboratorním vyšetřování, tak i v hematologické praxi byly vypracovány některé vyšetřovací metody, které jsou vhodné pro rychlá vyšetření. Patří sem stanovení hemoglobinu, hematokritu a rychlé zpracování a zhodnocení krevních nátěrů.

Stanovení hemoglobinu pomocí jednoúčelového elektrického fotometru, který je sestaven pro hemoglobinometrii, je v našich laboratořích již běžné a osvědčuje se. Existuje též malý ruční bateriový hemoglobinometr s nasávací trubičkou pro naředěný vzorek krve, udávající přímo numerickou hodnotu hemoglobinu v g%; práce s ním je velmi rychlá (Hemolux Medata). Ke stanovení hematokritu se v poslední době výhodně používají mikrohematokrity (kapilární hematokrity). Kapilární krev se nasává do standardních negraduovaných heparinizovaných kapilár, které se pak odstřeďují ve speciální odstředivce. Procento hematokritu se odečítá podle příslušné stupnice. V laboratořích je v provozu několik typů těchto mikrohematokritových centrifug, na našem oddělení máme nejlepší zkušenosti se systémem Cellokrit 2 Ljungberg (Medata) s kapilárami 75 mm dlouhými. Heparinizované kapiláry se uzavírají na jednom konci plastelinou a při kvalitním gumovém proužku na okraji rotoru nedochází k prosakování krve. Odečítání hematokritu je jednoduché a praktické přiložením stupnice přímo k rotoru

s kapilárami. Jiné systémy, které vyžadují zavádění hematokritových kapilár, nebo používají jiné délky kapilár či jiného způsobu odčítání, jsou podstatně méně praktické.

Firma Calbiochem vyvinula soupravu k rychlému hematologickému barvení krevních nátěrů. Souprava se skládá ze tří druhů barevných papírků, z nichž dva slouží k přípravě roztoků, jeden k vlastnímu barvení. Oba roztoky (tzv. katalyzátor a pufr) jsou stabilní a lze je použít na více barvení, takže při dalším barvení odpadá nová příprava roztoků. Po zaschnutí krevního nátěru (10 min.) se provede vlastní barvení, které trvá necelé 2 minuty. Po zaschnutí je možno preparát již prohlížet pod mikroskopem, rozlišitelnost jednotlivých krevních elementů při správném postupu barvení je dobrá a nečiní obtíží. Pro nátěry z kostní dřeně se toto barvení podle našich zkušeností nehodí, poněvadž rozlišovací možnost dřeňových elementů není dostatečná a může dojít k záměně. Při zhotovení nátěrů z krve s antikoagulační přísadou je barvení nutno provést co nejdříve.

Z obarveného krevního nátěru zkušenější pracovník je schopen provést i přibližný odhad celkového počtu leukocytů a trombocytů, což pro rychlou a orientační diagnostickou potřebu u akutních stavů zcela postačuje.

Vyšetření akutních krvácivých stavů nejasné etiologie nebo akutních tromboembolických příhod je náročné a nutno je provádět

i jako statimové ve specializované centrální hemokoagulační laboratoři.

Souhrn

U metodik používaných pro vyšetřování akutních stavů se požaduje po technické stránce jednoduché a rychlé provedení, někdy třeba i na úkor přesnosti. Těmto podmínkám vyhovují diagnostické papírkové testy, tabletové testy, k jednotlivému stanovení enzymatické aktivity monotesty (na bázi tzv. optického testu v UV oblasti), pro barvení krevních nátěrů rychlobarvicí papírková souprava. Stanovení minerálů Na a K, acidobazické rovnováhy a krevních plynů, hemoglobinu a hematokritu se provádí dostatečně rychle moderními výkonnými přístroji běžně používanými v rutinním provozu. Některé další látky v krvi lze dosti rychle stanovit běžnými komerčními sety.

Literatura

1. Richterich, R.: Klinische Chemie. 3. vyd. Frankfurt a. M. 1971.
2. Firemní literatura:
Ames Company, Stoke Poges, Bucks, Anglie
Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, NSR
Calbiochem AG, Lucerne, Švýcarsko
Germed, Berlin, NDR
Gödecke AG, W-Berlin, Werk Freiburg, NSR
Lachema n. p., Brno, ČSSR
Medata AB, Stockholm, Švédsko
E. Merck AG, Darmstadt, NSR