

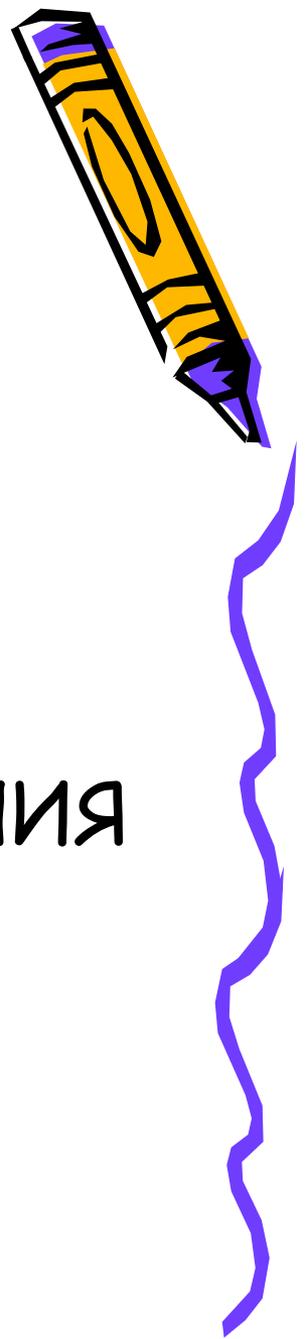


КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

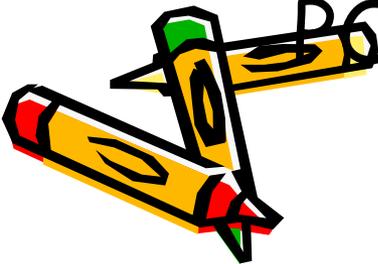
ВВЕДЕНИЕ



лабораторной службы регламентируется:



- ПРИКАЗ МИНЗДРАВА РФ ОТ 25.12.1997 N 380
- "О СОСТОЯНИИ И МЕРАХ ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ ЛАБОРАТОРНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ В УЧРЕЖДЕНИЯХ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ"





2. Приказ №9 от 26.01.94г. «О совершенствовании работы по внешнему контролю качества клинических лабораторных исследований»

3. Приказ №45 от 07.02.2000г. «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения РФ»

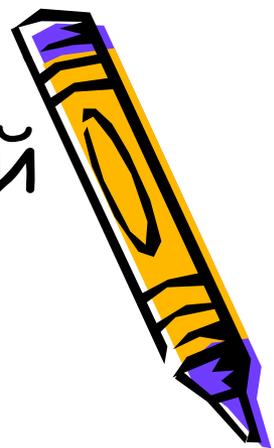
4. Приказ №64 от 21.02.2000г. «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований»



5. Приказ №87 от 26.03.2001г. «о совершенствовании серологической диагностики сифилиса»

6. Приказ №109 от 21.03.2003г. «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий»

7. Приказ №220 от 26.05.2003г. «Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов»

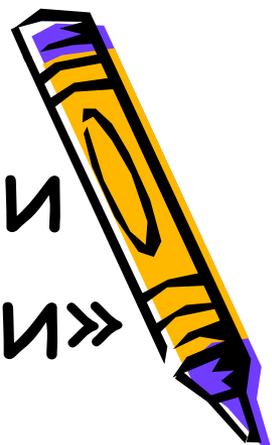


8. Приказ №690 от 01.12.2006г. «Об утверждении учетной документации по выявлению туберкулеза методом микроскопии»

9. Приказ № 112 от 11.03.2008г. «О номенклатуре специальностей специалистов с высшим и послевузовским медицинским и фармацевтическим образованием в сфере здравоохранения РФ»



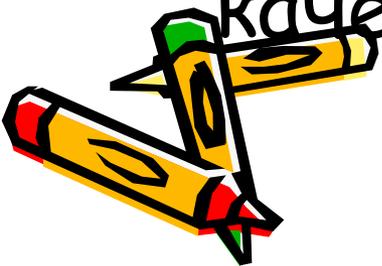
Приказ МЗРФ №267 от 19.06.2003г. «Об утверждении правил лабораторной практики»



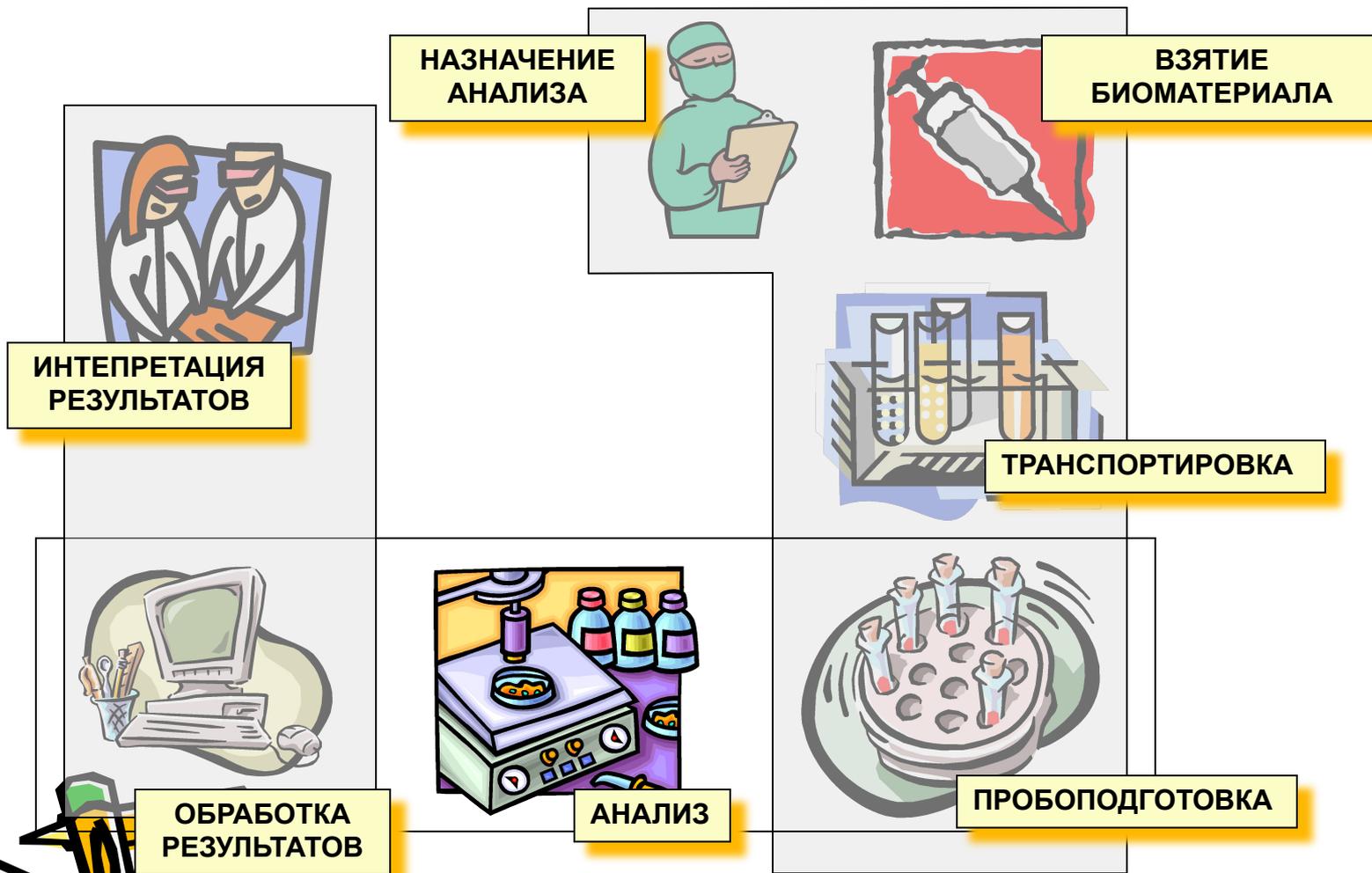
1. Поступление материала
2. Идентификация материала
3. Маркировка материала
4. Обработка материала
5. Отбор проб
6. Использование исследуемых веществ



1. Хранение исследуемых веществ
2. Обслуживание измерит.приборов
3. Приготовление реактивов
4. Ведение и хранение записей, отчетов
5. Обслуживание помещений
6. Прием, транспортировка, размещение и описание тест-систем
7. Обезвреживание и утилизация тест-систем
8. Обеспечение программ по контролю качества



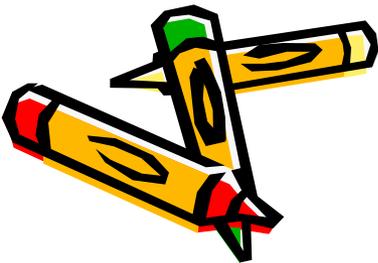
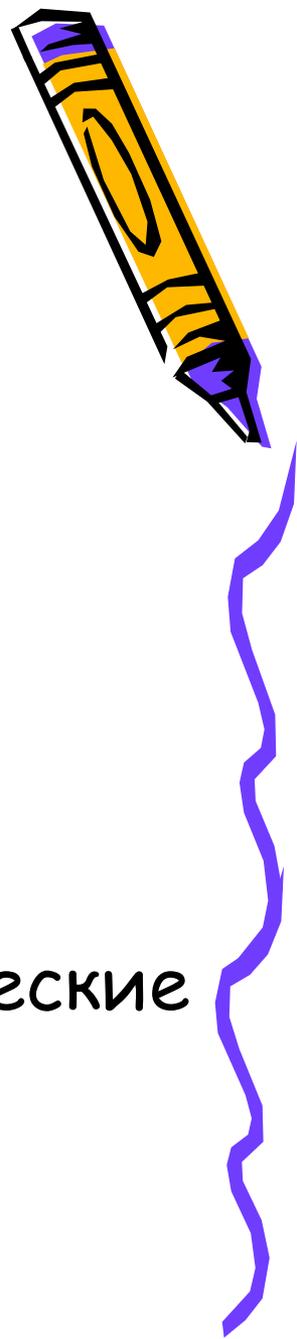
Этапы лабораторного исследования



Методы исследования и аналиты

- Клинические
- Биохимические
- Гематологические
- Иммунологические
- Бактериологические
- Цитологические
- Генетические

Аналитами могут быть любые биологические
жидкости и ткани человека

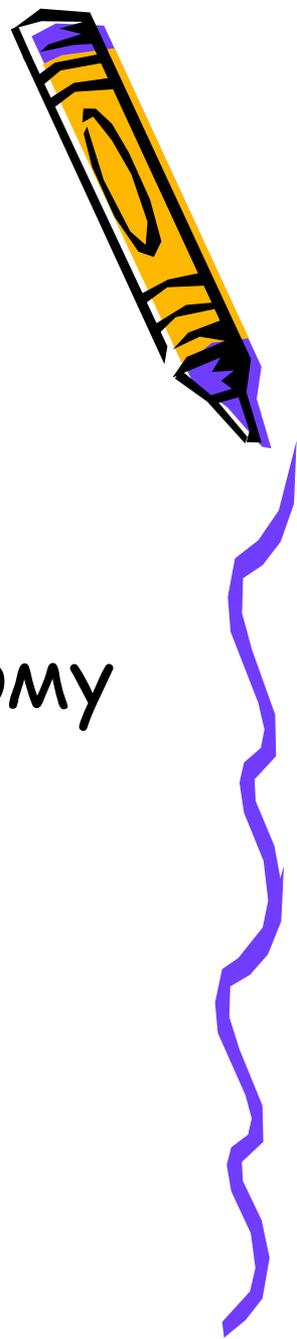




Преаналитический этап

- Лабораторное обследование начинается с назначения клиницистом перечня анализов.
- Для того чтобы правильно составить перечень исследований необходимо точно знать какую информационную и диагностическую ценность они имеют.
- Выбор тестов должен базироваться на наиболее вероятном рабочем диагнозе





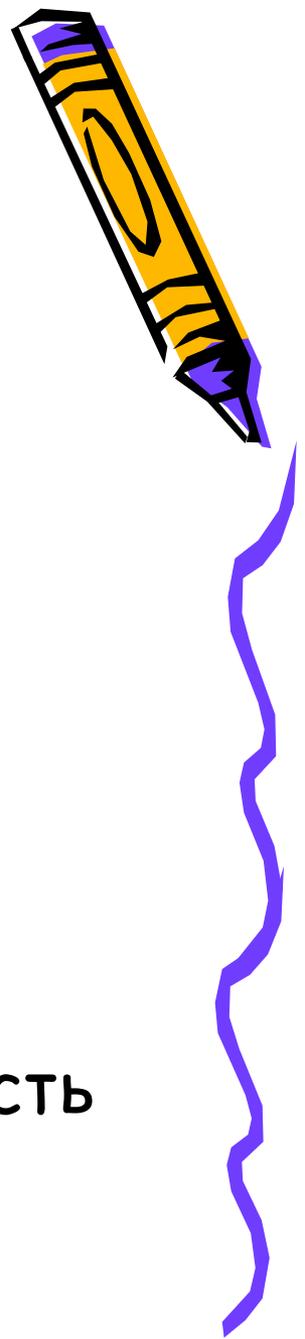
- Даже заведомо ценный тест никому не приносит пользы, если результат анализа никак не используется.



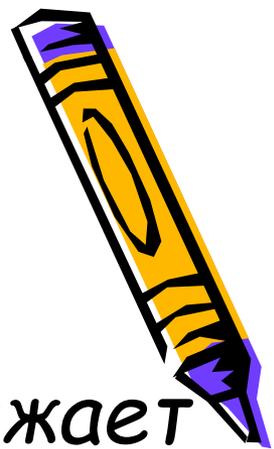
Приказ МЗ РФ от 3.07.99г №303

При выборе диагностических методов необходимо учитывать:

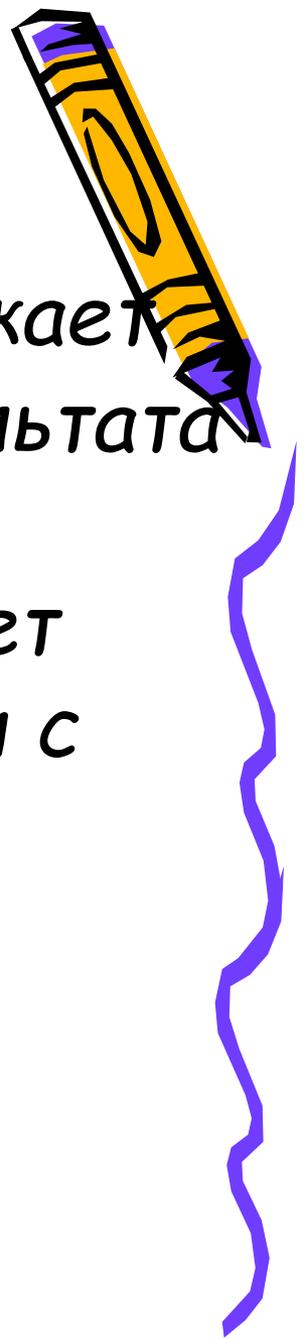
- Диагностическую чувствительность
- Диагностическую специфичность
- Прогностическую ценность
- Безопасность
- Степень доступности
- Стоимость метода
- Соотношение стоимость \ эффективность



- **Чувствительность теста** - отражает вероятность его положительного результата в присутствии патологии. Высокая чувствительность теста позволяет с его помощью выявлять больных в общей популяции



- Специфичность теста - отражает вероятность отрицательного результата в отсутствии патологии, что при высокой специфичности позволяет отсеивать здоровых из популяции с предполагаемой патологией



Оценка клинической значимости изменения концентрации аналита

В.Дж.Маршал (2000г.) формула
критического различия

$$2,8 \cdot \sqrt{CV_a^2 + CV_b^2}$$

CV_a^2 - Коэффициент аналитической
вариации

CV_b^2 - Коэффициент биологической
вариации

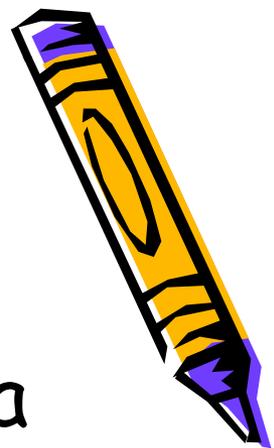
2,8 - коэффициент для $p=0,05$



Пример

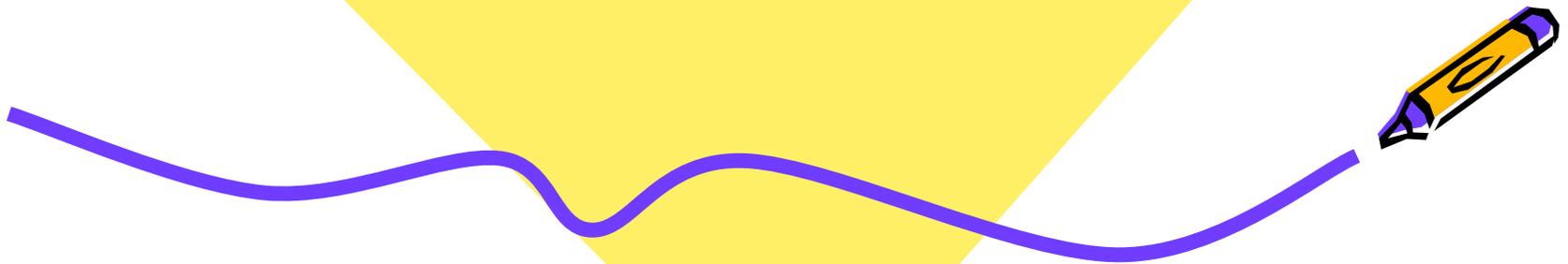
У пациента с диагнозом сахарный диабет выполнен анализ крови на содержание креатинина - результат 105 мкмоль/л, через 6 мес - 118 мкмоль/л. Прирост 12.4%

При пересчете по формуле Маршала получена цифра 18,5%, т.е. с 95% вероятностью повышение уровня креатинина на 12,4% не является клинически значимым

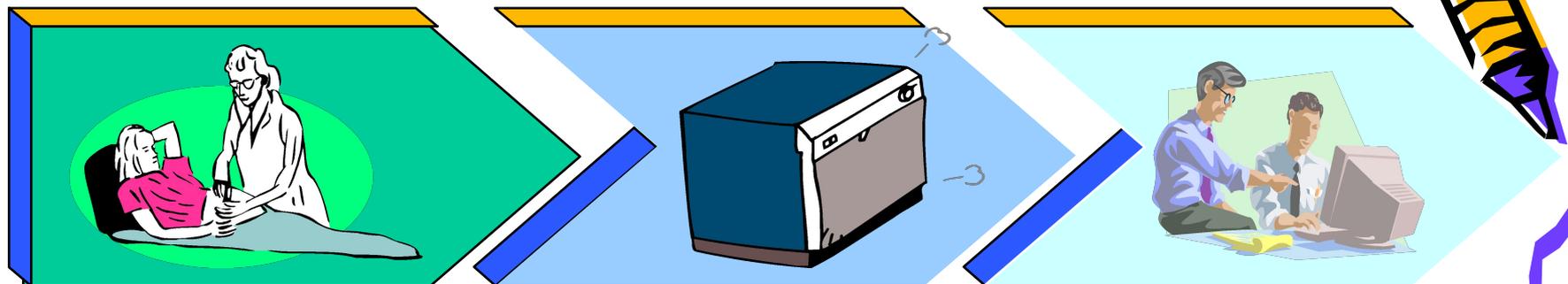




**ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП
ЛАБОРАТОРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ:
*классика и современность***



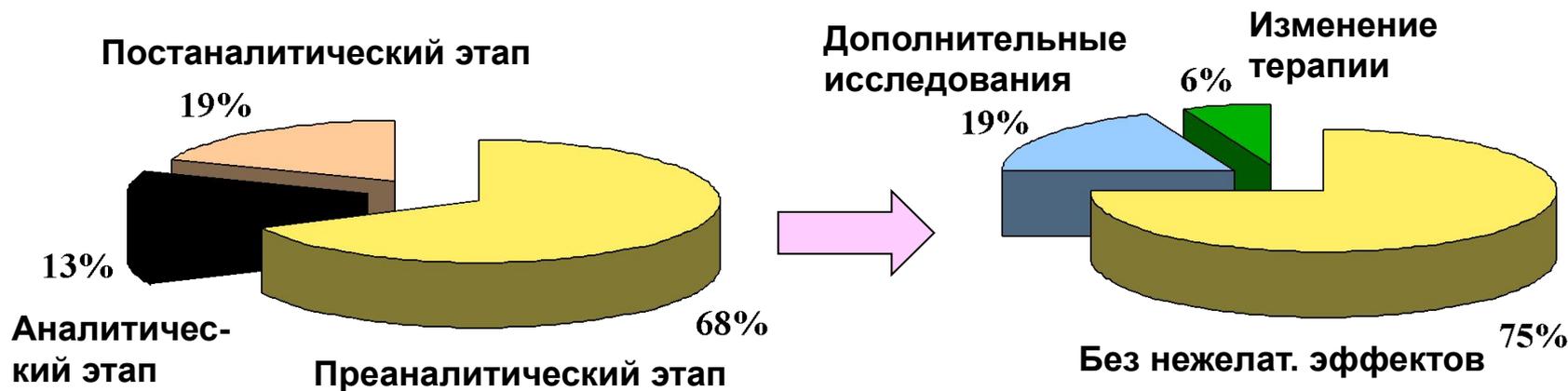
ЭТАПЫ ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ



1. **ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ** - назначение анализа, подготовка пациента к исследованию, взятие биоматериала, его транспортировка в лабораторию, пробоподготовка)
2. **АНАЛИТИЧЕСКИЙ**
 - **доприборный** (добавление реактивов или красителей, химическая реакция, инкубация, перемешивание, промывание и т.д.)
 - **приборный** (фотометрия / электрометрия / радиометрия / подсчет частиц, расчет результатов)
3. **ПОСТАНАЛИТИЧЕСКИЙ** - передача результатов лечащему врачу, интерпретация, корректировка диагноза / лечения



Ошибки лабораторных исследований и их последствия



На преаналитический этап пришлось 46 - 68% всех ошибок лабораторного исследования в экспресс-лаборатории.

Следствия:

- 6% пациентов получили неправильное лечение,
- 19% пациентов были назначены ненужные дополнительные исследования.

- Неадекв. трансфузии 2%
- Неадекв. инфузии электролитов 1%
- Неадекв. изменения дозы гепарина 2%
- Неадекв. изменения дозы дигоксина 1%

Преаналитический этап лабораторного исследования

Назначение анализа, подготовка пациента

Выбор метода

Взятие биоматериала

Транспортировка в лабораторию

Регистрация, хранение

Центрифугирование

Разделение на порции

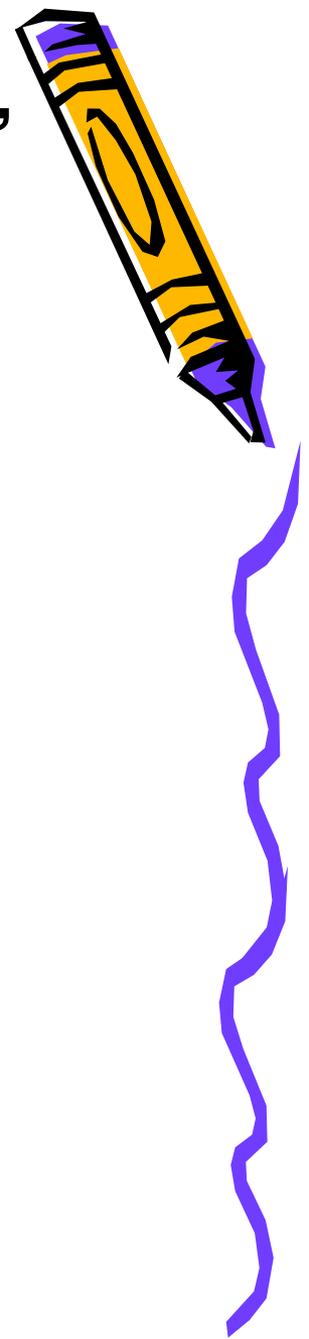
Подготовка пробы для исследования

Внелабораторная фаза (20,2 % времени)

Внутрилабораторная фаза (37,1 % времени)



Факторы преаналитического этапа, способные влиять на результаты лабораторных исследований



НЕИЗМЕННЫЕ

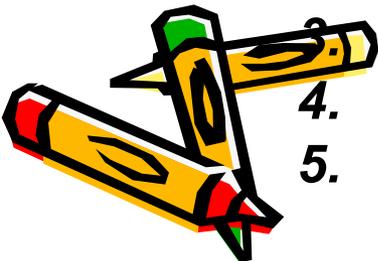
1. **Пол пациента**
2. **Этногеографические особенности**

ДОЛГОВРЕМЕННО ВЛИЯЮЩИЕ

1. **Масса тела**
2. **Образ жизни, занятия спортом**
3. **Беременность**

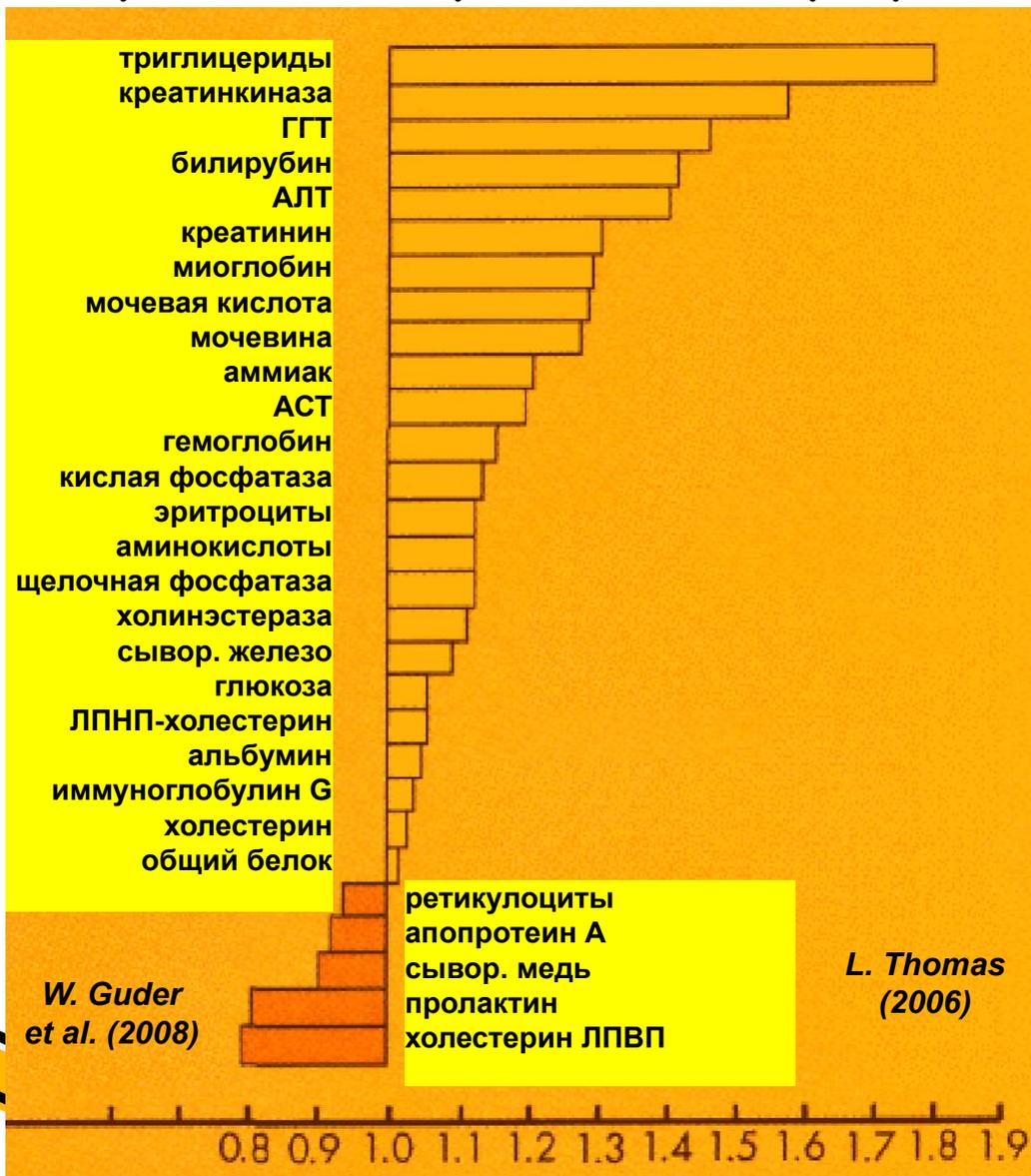
КОРОТКОДЕЙСТВУЮЩИЕ

1. **Биоритмы организма**
2. **Физическая нагрузка, стрессы**
3. **Диета (потребление пищи)**
4. **Курение, алкоголь, наркотики**
5. **Лекарственные препараты**



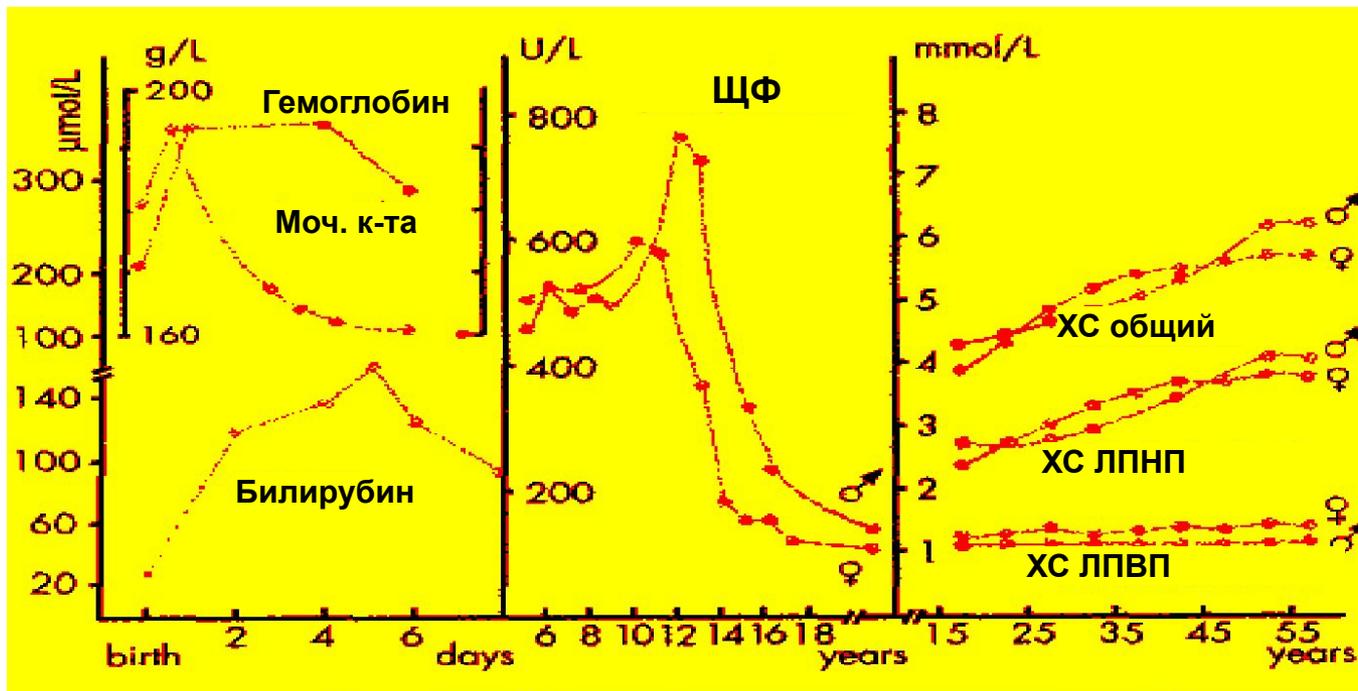
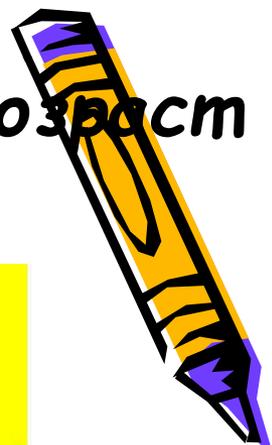
Влияние пола пациента

Уровень некоторых анализов у мужчин по отношению к женщинам



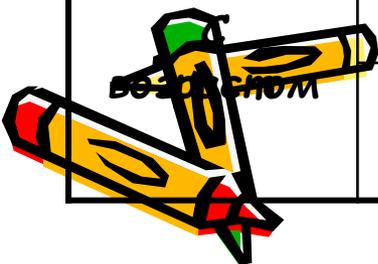
| Пол / анализы | Муж. | Жен. |
|------------------------|-----------|-----------|
| АЛТ, МЕ/л | < 50 | < 35 |
| Сыворот. Fe, мкмоль/л | 6,3 - 31 | 4,1 - 24 |
| Ферритин, мкг/л | 18 - 360 | 9 - 140 |
| Мочевая к-та, ммоль/л | 0,22-0,42 | 0,14-0,36 |
| Креатинин (Яффе кин.) | 65 - 115 | 45 - 85 |
| Гемоглобин, г/л | 135 - 175 | 120 - 160 |
| Гематокрит, % | 40 - 53 | 36 - 48 |
| СОЭ, мм/ч (Вестергрен) | < 15 | < 20 |

Долговременно влияющие факторы : возраст пациента

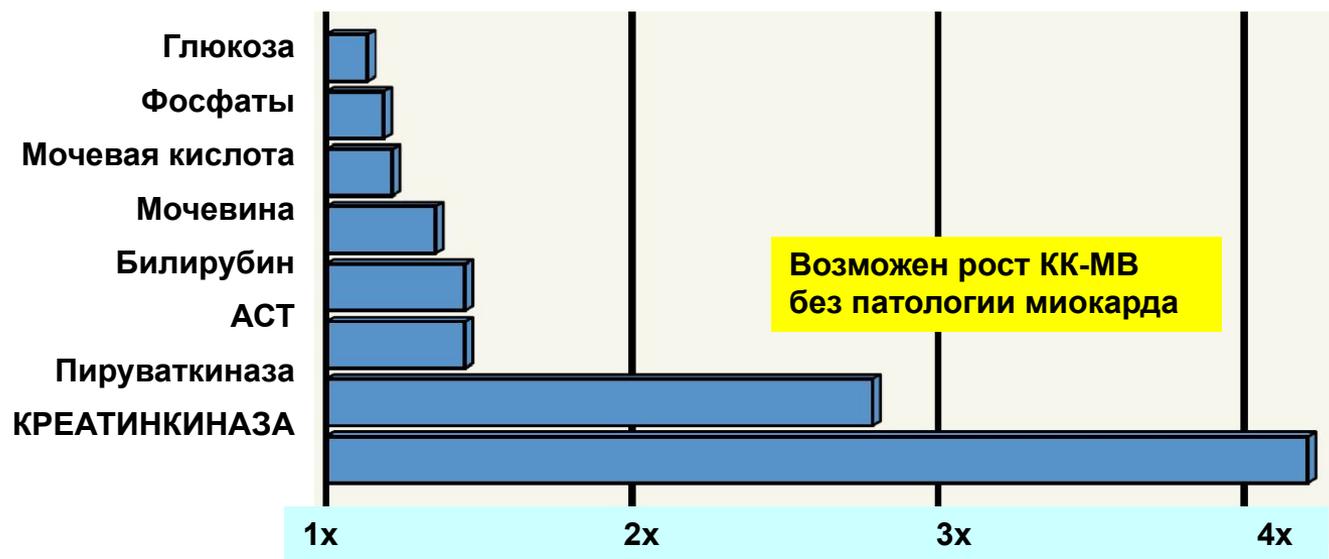


W. Guder et al. (2008)

| | | | | | | |
|----------------|-----------------|--------------|---------------|--------------|----------------------|--------------------------|
| | ↑ Холестерин | ↑ СОЭ | ↑ Ферритин | ↑ Глюкоза | | |
| ↑ Возрастом | ↓ Альбумин | ↓ Кальций | ↓ Фосфат | ↓ СКФ | ↓ pO ₂ | ↓ Протромбин по Квику |



Занятия спортом



W. Guder et al.
(2008)

Масса тела и лабораторные показатели

По мере роста
массы тела

↑ Холестерин

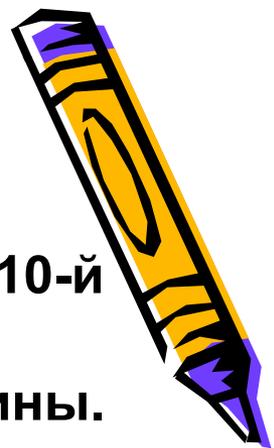
↑ Триглицериды

↑ Мочевая кислота

↑ Кортизол

↑ Инсулин

У беременных:



1. **Возрастание объема циркулирующей плазмы** (после 10-й недели, к концу беременности 2600 -> 3900 мл) =>
↑ СКФ на 50%, ↑ объем мочи на 25%, ↓ уровень мочевины.
2. **Разведение крови** => **СОЭ ↑ до 5 раз**, изменения некоторых электролитов (↓Ca, Mg, Fe, ↑Cu).
3. **Изменения синтеза половых гормонов**
 - ***Увеличение синтеза белков в печени:***
 - ↑ **транспортных белков** (↑ оТ4, кортизол, Cu),
 - ↑ **белков острой фазы** (↑ фибриноген, С-РБ),
 - ↑ **липопротеинов** (↑ холестерин, триглицериды),
 - ↑ **факторов свертывания** (↑ D-димер, РФМК).
 - ***Увеличение интенсивности обмена веществ :***
 - ↑ активность ЩФ.

Изменения максимальны к концу беременности.



Короткодействующие факторы : биологические ритмы



1. Суточные ритмы (гормоны, Fe, ферменты...)

2. Месячные ритмы

1. Ренин и альдостерон \uparrow до 2 раз перед овуляцией
2. Холестерин \downarrow при овуляции, фосфаты и сывор. Fe \downarrow во время менструации

3. Сезонные ритмы

- T_3 \downarrow на 20% летом по сравн. с зимой
Уровень 25-ОН-ХКФ летом выше



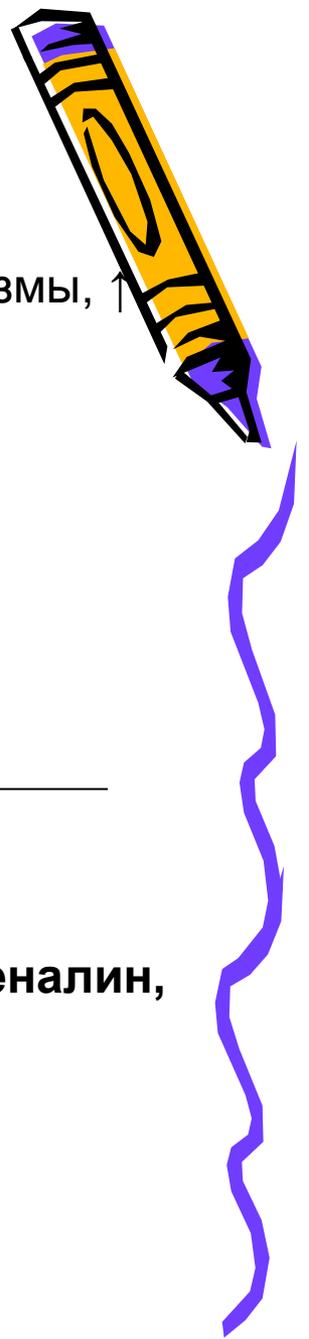
Влияние суточных биоритмов



| Аналит | Суточные колебания, % | Аналит | Суточные колебания, % |
|-----------------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| Максимум - в утренние часы | | | |
| АКТГ | 200 | Адреналин | 20 |
| Ренин | 140 | Тироксин | 20 |
| Норадреналин | 120 | Гемоглобин (кровь) | 20 |
| Пролактин | 100 | Гематокрит (кровь) | 20 |
| Альдостерон | 80 | Лейкоциты (кровь) | 20 |
| Кортизол | 50-200 | Общий белок (сыв.) | 20 |
| Тестостерон | 50 | Билирубин (сыв.) | 20 |
| Максимум - в дневные часы | | | |
| Железо (сыв.) | 100 | Калий (сыв.) | 15 |
| Эозинофилы (кровь) | 30 | | |
| Максимум - в вечерние часы | | | |
| Креатинин (сыв.) | 50 | Тиреотропный гормон | 50 |
| Кислая фосфатаза (сыв.) | 200 | Соматотропный гормон | 300 |
| Мочевая кислота (сыв.) | 50 | Температура тела | 0,8-1,0°С |



Физическая нагрузка и стрессы



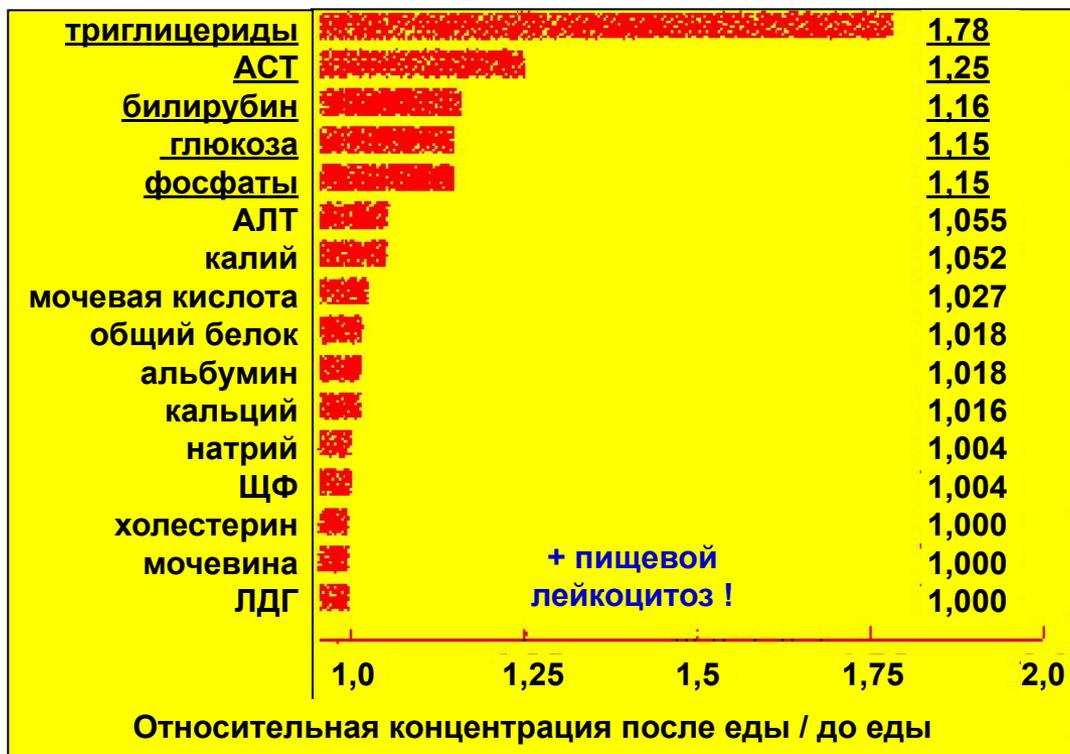
- **Потеря жидкости с потом** => возможно ↑ осмолярности плазмы, ↑ общего белка и белково-связанных веществ в плазме.
- **Изменение концентрации гормонов** (↑ адреналин, АКТГ, кортизол, СТГ, глюкагон, ↓ инсулин) => ↑ глюкоза.
- **Лейкоцитоз** (до $25 \cdot 10^9/\text{л}$), м.б. временная лейкоцитурия и эритроцитурия.

Психический стресс:

- **Изменение концентрации гормонов** (↑ альдостерон, адреналин, кортизол, пролактин, ренин, м.б. инсулин).
- ↑ Глюкоза, фибриноген.
- ↑ Агрегация тромбоцитов.



Пищевой фактор



ЛИПЕМИЯ

Голодание – ↑ распад белков и липидов, ↑ ЖК, кетоацидоз, лактацидоз

Нельзя принимать пищу в течение 12 час перед взятием крови, особенно для исследования :

Триглицеридов

АСТ

Щелочной фосфатазы

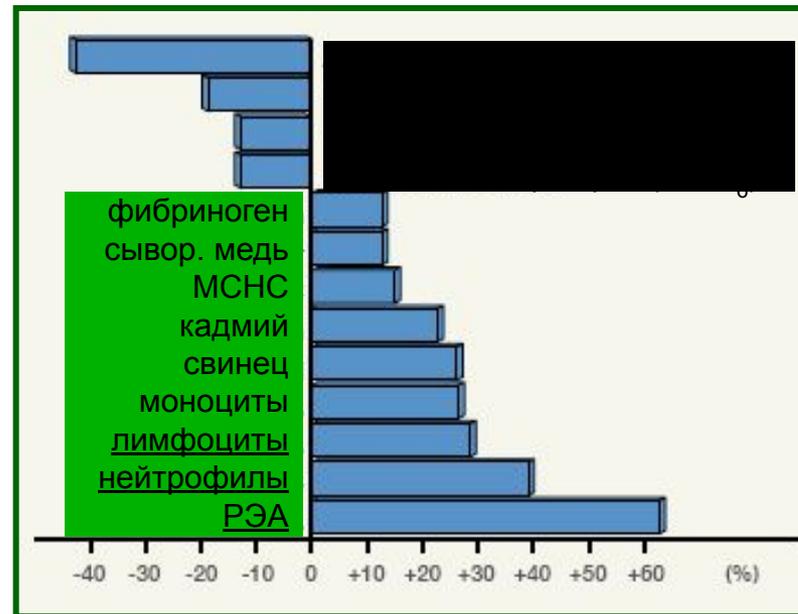
Холестерина и его фракций

Глюкозы

Фосфата

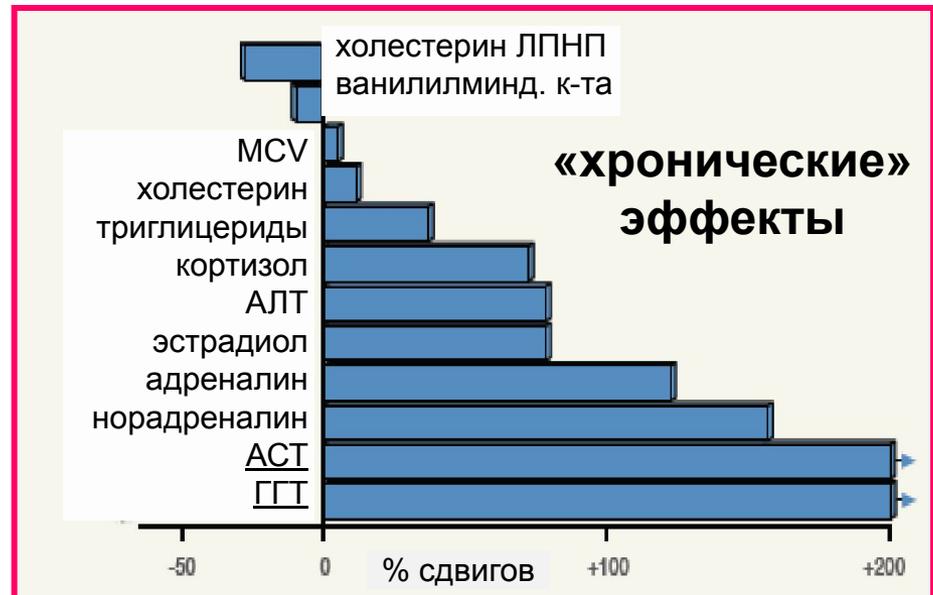
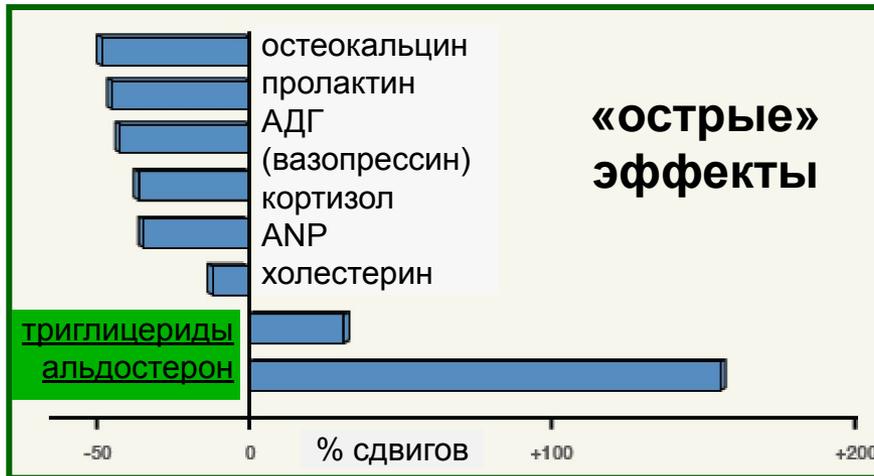
Курение

- **острые эффекты** – даже после одной сигареты, в пределах 1 часа (\uparrow адреналин, альдостерон, кортизол...) => **активация липолиза**, \uparrow ЖК
- **хронические эффекты** – \uparrow СО-Нв, умеренные сдвиги параметров:

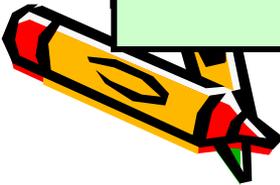
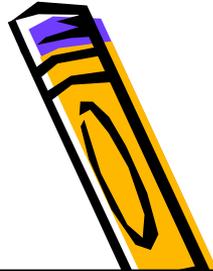


Перед взятием крови нельзя курить минимум 30 мин – 1 час

Употребление алкоголя



Эффекты наркотиков



| | |
|--------------|---|
| 1. Амфетамин | ↑ липолиз, ↑ СЖК |
| 2. Опиаты | ↑ α-амилаза, липаза, АСТ, АЛТ, ЩФ, билирубин, гастрин, пролактин, ТСГ |
| | ↓ инсулин, норадреналин |
| 3. Героин | ↑ рСО ₂ , оТ4, холестерин, калий (рабдомиолиз) |
| | ↓ рО ₂ , альбумин |
| 4. Канабис | ↑ Na, K, Cl, мочеви́на, инсулин |
| | ↓ глюкоза, креатинин, мочева́я кислота |

Влияние лекарственных средств на результаты анализов



Аналитическое (in vitro)

Биологическое (in vivo)

Аналитическое влияние – «**вмешательство**» лекарства в химическую / физическую реакцию **определения аналита**:

- Креатинин в моче: ложное повышение при лечении цефалоспоридами и занижение от аскорбиновой кислоты (хим.)
- Глюкоза в моче: ложноположительный результат при лечении цефалоспоридами и аскорбиновой кислотой (хим.)
- Кетоновые тела в моче: ложноположительный результат при лечении фталазолом (хим.)



Влияние лекарственных средств на результаты анализов



Биологическое влияние – лечебное или побочное **действие** лекарства на **метаболические процессы в организме**:

- **Цитотоксичность**: бигуаниды и циклоспорин => повреждение гепатоцитов (↑ АЛТ, ↑ ЛДГ, ↑ЩФ); цисплатин и гентамицин => нефротоксический эффект (↑креатинина, ↓Na)
- **Индукция синтеза ферментов**: противосудорожные средства (фенобарбитал и др.) => ↑ ГГТ
- **Конкуренция за глюкуронизацию**: сульфаниламиды, некоторые антибиотики, Rö-контрастные средства => ↑ непрямого билирубина
- **Блокирование функции тиреотрофов гипофиза**: йодиды в больших дозах, Rö-контрастные средства => ↓ ТТГ, ↓ T4



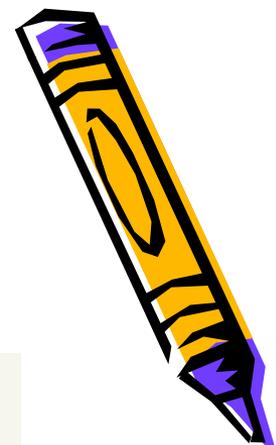
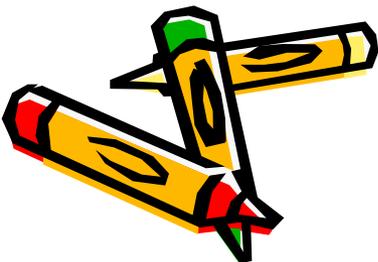
Влияние внутривенных инфузий и трансфузий на результаты анализов

| Препараты | Аналиты | Изменения | Комментарий |
|------------------|--|---------------------|-------------------|
| Декстраны | Тромбиновое время, АЧТВ | ↑ | Замедл. на 5-10 с |
| | Мочевина | ↓ | Разведение |
| | Общий белок (биур.метод) | Ложное ↑ | Хлопья, муть |
| | Группа крови | Псевдоагглютинация | |
| γ-глобулин | Серол. реакции (IgM, IgG) | Ложно(+) результаты | |
| Электролиты | Na, K, Mg, Ca, ... | ↑ | Введенные в-ва |
| Глюкоза | Глюкоза | ↑ | Введенные в-ва |
| | Фосфат, калий | ↓ | Выброс инсулина |
| | Амилаза, билирубин | ↓ до 15% | Особ. у новорожд. |
| Плазма, ЭР-масса | рН крови ↓ (метаболический ацидоз), калий ↑, ЛДГ ↑, свободный НВ ↑ (гемолиз) | | |
| | Тесты свертывания крови | ↑↓ | Связывание Са |
| Гепарин | Время свертывания крови | ↑ | Замедление |

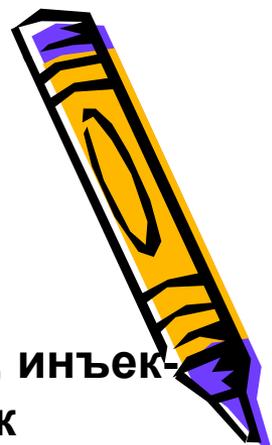
Терапевтический лекарственный мониторинг



**При подозрении на передозировку или интоксикацию
время взятия крови – ЛЮБОЕ (как можно быстрее)**



Диагностические и лечебные процедуры, влияющие на результаты анализов



- **Оперативные вмешательства**, эндоскопические процедуры, инъекции, пункции, биопсия, глубокая пальпация, общий массаж
 - **Функциональные пробы** (ГТТ, зондирование и др.), введение контрастных веществ
 - **Гемодиализ, гемосорбция, плазмаферез и др.**
-

□ Хирургические вмешательства (послеоперационный период):

- **↑ Белки острой фазы:** ↑ фибриноген, С-РБ; ↓ альбумин, трансферрин...
- **↑ Распад белка** => ↑ мочевины (до 10-12 ммоль/л, особенно при кровотечениях в ЖКТ) на фоне N креатинина

□ Стресс (процедурный, предоперационный)

- **Выброс гормонов** (адреналин, кортизол, ренин, ангиотензин, альдостерон и др.) => **сдвиги углеводного, белкового, липидного и водно-минерального обмена** (↑ глюкоза, лактат, фибриноген...), активация тромбоцитов и т.д.

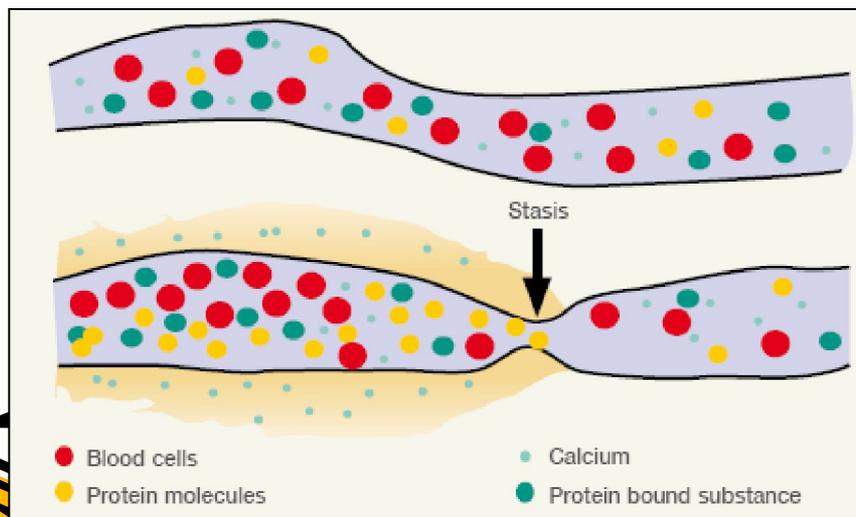


□ **Положение тела пациента**

- ◆ **Стоя / сидя** – вода частично переходит в межклеточное пространство, объем плазмы ↓ на 10-15%, осмолярность не изменяется.
- ◆ **Лежа** – обратные явления (↑ ОЦП на 10-15%)

□ **Наложение жгута на руку** – частичный переход жидкости в межклеточное пространство. Если < 1 мин – то N.

□ **“Работа кулаком”** – может вызвать ↑ уровня калия на 0,5-1,0 ммоль/л



| Параметр | Лежа → сидя |
|--|---------------------|
| Нв, лейкоциты Общий Са, АСТ, ЩФ Общий белок, альбумин, IgA, IgG, oT4 Холестерин, триглицериды | ↑ до 10 % |
| Эритроциты, гематокрит Аполипопротеины Альдостерон | ↑ на 10-20 % |
| Адреналин, норадреналин Ренин | ↑ > 50 % |
| Параметр | Турникет > 1 мин |
| АЛТ, АСТ, ЛДГ, КК, ЩФ Общий белок, альбумин Холестерин, триглицериды | ↑ на 6-12 % |
| Глюкоза Фосфаты, хлориды Мочевина, креатинин Лейкоциты | ↓ до 4 % |

Правила взятия биоматериала



- Кровь – **вначале капиллярную** (КОС / Ca⁺⁺, гематология, TDM), **потом – венозную** (гемокультура, коагуляция, сыворотка...),
- по возможности - **между 07.00 и 09.00**, если требуется – после специальной подготовки пациента,
- не ранее чем через **12 часов** после приема пищи, при воздержании от алкоголя и курения,
- если анализы **срочные** - с отметкой о времени взятия (журнал, бланк направления),
- избегать интенсивной физической нагрузки в течение 24 час; избегать физических и эмоциональных стрессов, перед взятием материала - покой 20-30 мин;
- положение пациента - **лежа или сидя** (результаты могут различаться);
- до выполнения диагностических / терапевтических процедур и введения лекарств !!!!!



Анализ пробы, взятой не вовремя, может быть хуже, чем отсутствие анализа вообще.



Памятка для пациента

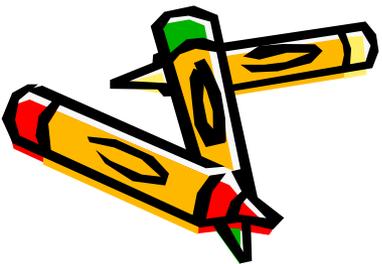
Общеклиническое исследование крови

- Общеклиническое исследование крови (ОИК) назначено Вашим лечащим врачом. Цель исследования - объективно оценить состояние Вашего здоровья.
- Вы должны подготовить себя к этому исследованию следующим образом: воздержаться от физических нагрузок, приема алкоголя и лекарств, изменений в питании в течение 24 ч до взятия крови.

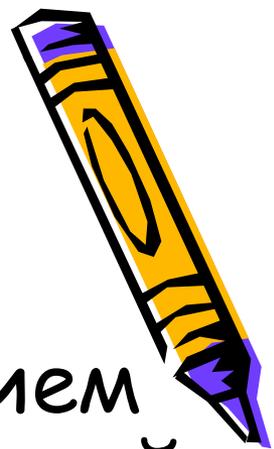




- Вам не следует принимать пищу после ужина, лечь спать нужно накануне в обычное для Вас время и встать не позднее, чем за час до взятия крови. Утром после подъема воздержитесь от курения.



- Если Вы испытываете трудности с отменой лекарств, то обязательно сообщите об этом лечащему врачу.
- Накануне вечером перед проведением взятия крови подойдите к процедурной медицинской сестре и уточните, где Вам необходимо находиться утром для его выполнения.
- Очень важно, чтобы Вы точно следовали указанным рекомендациям, так как только в этом случае будут получены ценные результаты исследования крови.

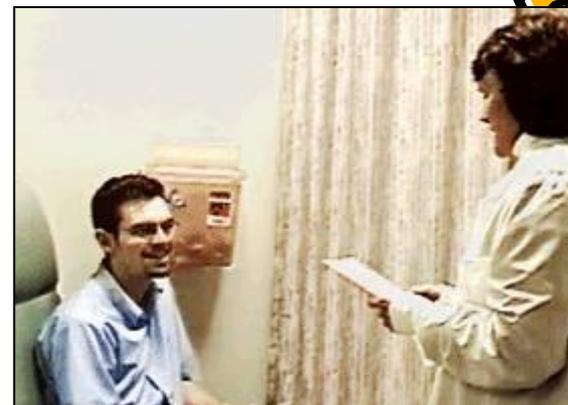


Идентификация пациента, выбор типа пробирки (добавки)

- **Спросить (!)** полное имя пациента и дату рождения,
- сверить регистрационные номера на направлении и на этикетках,
- сверить номер амбулаторной карты / штрих-код и имя пациента.

Для некоторых исследований дополнительно указываются:

- время взятия материала (суточные профили, функциональные тесты)
- принимаемые лекарственные препараты, витамины, гормоны,
- пол, рост и вес пациента.



- Нужно знать **тип и объем пробы**; соответственно выбирается пробирка по цвету пробки и надписи на этикетке).



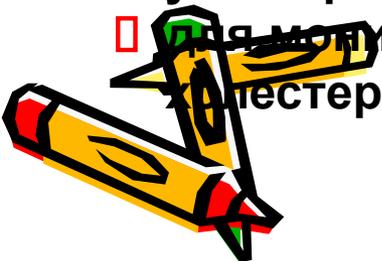
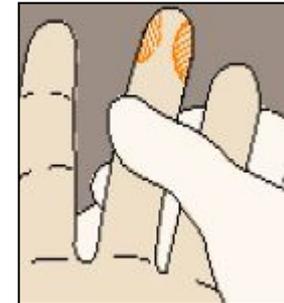
Взятие крови

Для исследования анализов в цельной крови, сыворотке или плазме кровь лучше брать **венозную кровь**

(стандартизация пробы и ее разбавления, меньшая вероятность появл-я микросгустков).

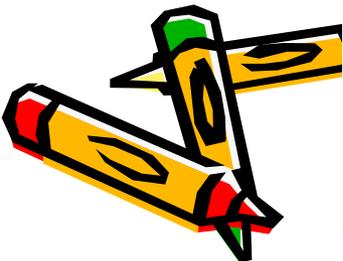
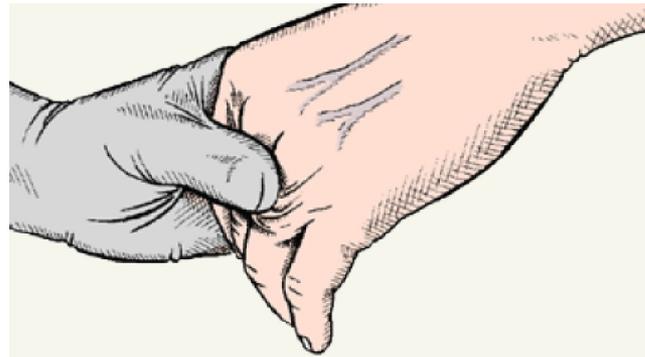
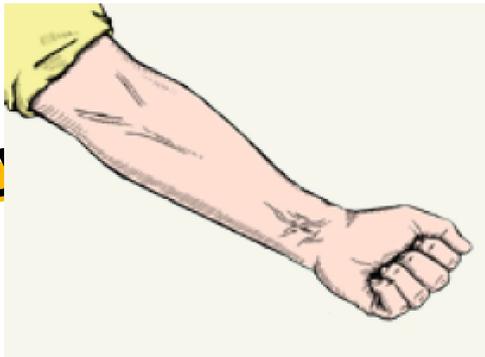
Капиллярную кровь берут:

- при обширных ожогах, затрагивающих область пункции,
- при флебитах и склонности к венозному тромбозу;
- у пациентов с труднодоступными венами (при выраженном ожирении);
- у новорожденных и маленьких детей,
- для мониторинга уровня глюкозы, МНО и кортизола (в т.ч. в домашних условиях).



Взятие крови из вены

- После инфузии / трансфузии выждать минимум 1 час. Не брать кровь из сосуда, расположенного проксимальнее места инфузии; желательно взять кровь из другой руки.
- При взятии крови из в/в катетера – промыть его физраствором, отбросить первые 3-5 мл крови. **Не для исследования гемостаза!**
- В лаборатории должны знать, **когда и что в/в вливалось** пациенту и когда была взята кровь.
- Взятую **кровь сохранять в закрытой пробирке**, как можно быстрее (< 45 мин) доставить в лабораторию.



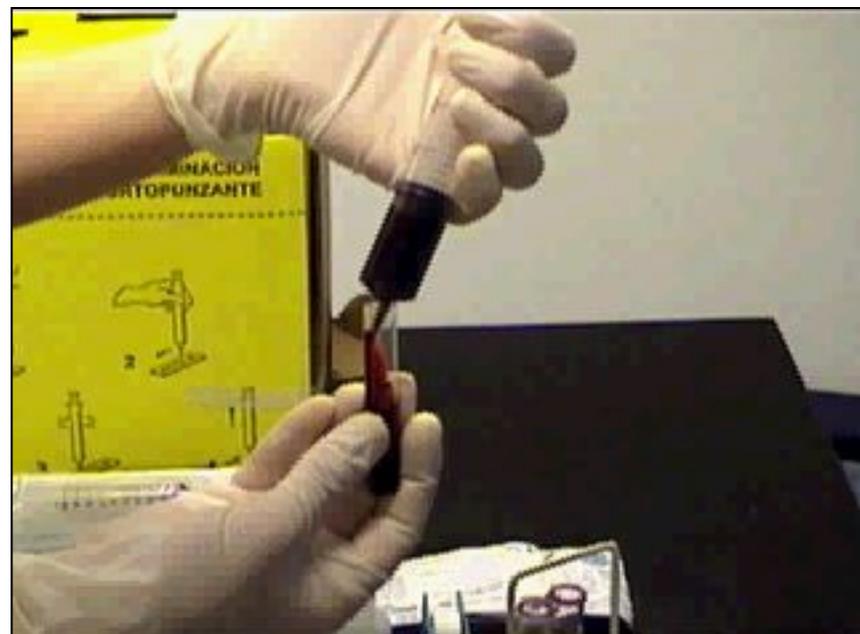
Взятие крови из вены шприцем



Высока **вероятность попадания крови пациента на руки медсестры** => другому пациенту могут передаваться гемоконтактные инфекции,

+ Медицинский работник может заразиться сам.

При проколе кожи **риск заражения:**
- **гепатитом В** - 30% (1 случай из 3),
- **гепатитом С** - 3% (1 случай из 30),
- **ВИЧ** - 0.3% (1 случай из 300).



При **переносе крови под давлением в пробирку возможен гемолиз.**

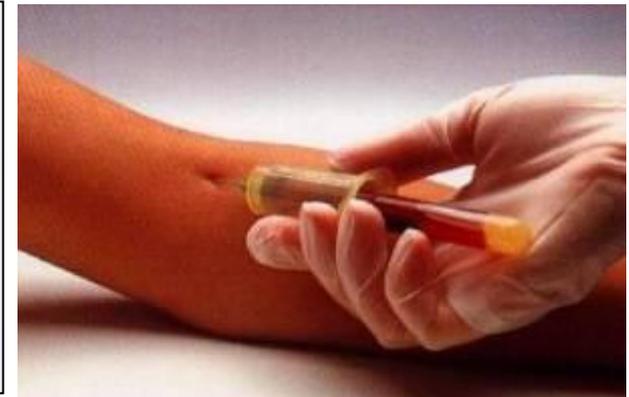
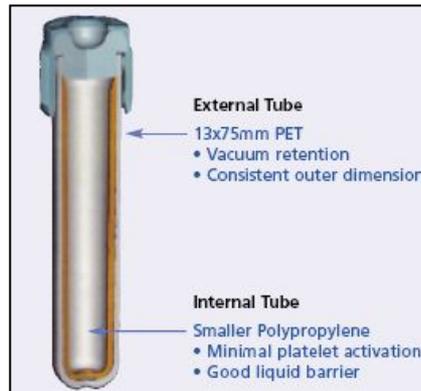
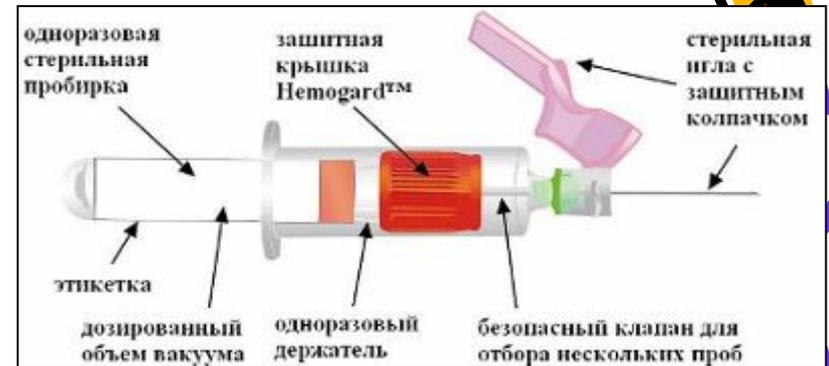


Вакуумные пробирки

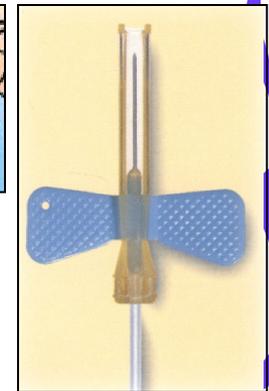
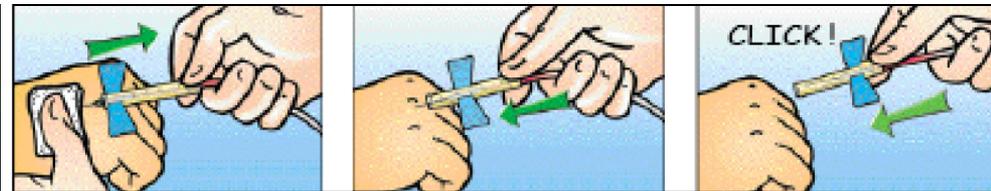
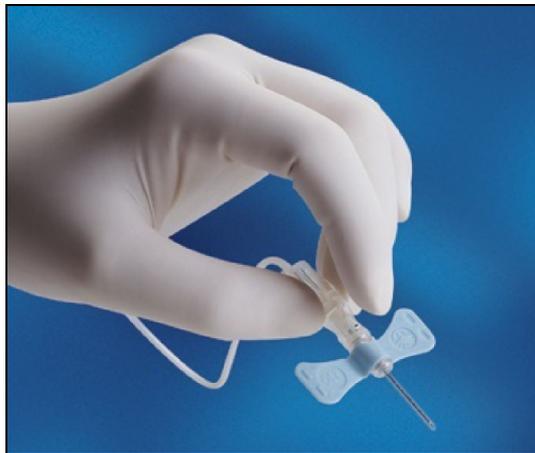
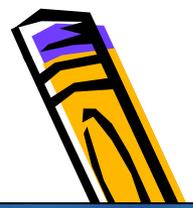
Предложены в 1937 г. Дж. Клейнером,
в 1949 г. – торговая марка «BD».

Вакутейнеры, вакуэтты, моноветты и др.
(для всех исследований, кроме газов крови)

ISO 6710 – международный стандарт
для вакуумных пробирок для взятия
крови.



Иглы и держатели



61% повреждений возникают в первые секунды после вынимания иглы из вены - Centers for Disease Control and Prevention, US Dept of Health and Human Services, 1997.

Последовательность взятия крови в вакуумные пробирки



Флаконы для гемокультуры, пробирки **без добавок** (пластик, стекло)



Пробирки **с цитратом** для коагулологии и для определения СОЭ



Пробирки (пластик) **с активатором свертывания** (и гелем) для сыворотки



Пробирки **с гепарином** (и гелем) для плазмы

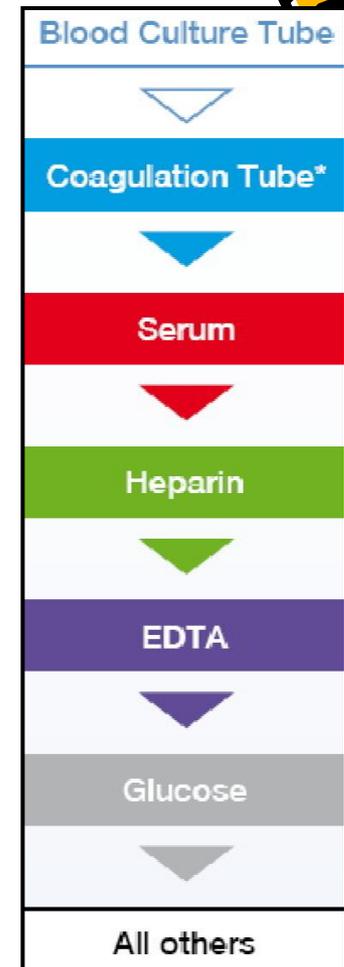


Пробирки **с ЭДТА** для цельной крови (гематология)



Пробирки **с фторидом/ЭДТА** для исследования глюкозы, лактата, HbA1c, этанола, гомоцистеина

Другие пробирки



Несовместимые антикоагулянты

АЛТ, АСТ - оксалат

Альбумин - гепарин

α -амилаза - цитрат, ЭДТА, фторид

α_1 -антитрипсин - цитрат, ЭДТА, оксалат

Белки (ЭФ) - оксалат

Билирубин - цитрат, фторид, оксалат

Витамин В12 - оксалат

ГБДГ - оксалат

ГГТ - цитрат, фторид, гепарин, оксалат

ГлДГ - фторид

Глюкоза - цитрат, оксалат

Железо сыв. - цитрат, ЭДТА, гепарин, оксалат

Инсулин - оксалат

Калий - оксалат

Кальций - цитрат, ЭДТА, оксалат

Кислая фосфатаза - цитрат, ЭДТА, фторид, гепарин, оксалат

Креатинин - цитрат, ЭДТА, фторид

Креатинкиназа - цитрат, фторид, оксалат

Креатинкиназа-МВ - цитрат, ЭДТА, фторид, гепарин, оксалат

ЛАП - цитрат, ЭДТА, фторид, гепарин, оксалат

ЛДГ - фторид, оксалат

Липаза - ЭДТА

Липопротеиды (ЭФ) - оксалат

Литий - оксалат

Медь - цитрат, ЭДТА, фторид, оксалат

Мочевая к-та - ЭДТА, цитрат, фторид

Мочевина - фторид

Натрий - цитрат, ЭДТА, оксалат

ОЖСС - ЭДТА

Протромбин по Квику - оксалат

СОЭ - гепарин

ТЗ - оксалат

Триглицериды - цитрат, фторид, оксалат

Фосфат - цитрат

Холестерин - цитрат, фторид

Холестерин ЛПВП - цитрат, фторид

Холестерин ЛПНП - оксалат

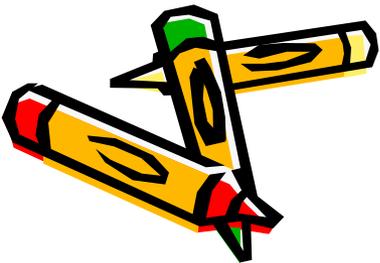
Холинэстераза - ЭДТА, фторид, гепарин

Церулоплазмин - ЭДТА

Щел. фосфатаза - цитрат, ЭДТА, фторид, оксалат

Пробирки для сыворотки / плазмы с разделительным гелем

- Не требуются вторичные пробирки, снижается опасность перепутать пробы.
- Повышается качество и стабильность образца при хранении и транспортировке.
- Выпускаются гелевые «транспортные» пробирки – со слоем геля двойной толщины.
- Возможно (хотя и не рекомендуется) замораживание гелевых пробирок с сывороткой / плазмой.



□ Пробирки для ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ / плазмы (с ЭДТА)

- Антикоагулянт, связывающий Ca^{2+} :

K_2 ЭДТА - напыление; K_3 ЭДТА - раствор.

Область применения: гематология, иммуногематология.

!!! Недостаточное заполнение кровью ведет к сморщиванию эритроцитов, занижению MCV и HCT. **Тщательно перемешать**, иначе образуются микросгустки («Clot», ↓ ТЦ...)

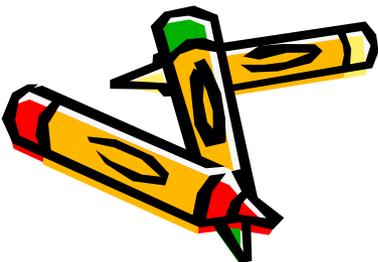


□ Пробирки для получения ПЛАЗМЫ (с гепарином)

- Гепарин-Na (-Li), гепарин+гель - антикоагулянт.

Область применения: иммунология, биохимия.

!!! Обязательно **хорошее перемешивание** гепарина с образцом, иначе фибрин может повлиять на результаты тестов. «Холодное» центрифугирование образца (< 4°C) может снижать действие гепарина и вести к образованию фибрина.



▣ Пробирки для КОАГУЛОЛОГИИ (с цитратом)

- Na_3 -цитрат (0,109 моль/л) – антикоагулянт, связ. Ca^{2+} .

Область применения: Коагулологические исследования.

!!! Требуется точного заполнения ($\pm 10\%$) !!! Кровь сразу перемешать с цитратом (точное соотношение 9:1 при НСТ 25-55% !!!)

- Недостаток крови ---> замедление свертывания при добавлении CaCl_2 в образец,
- Избыток крови ---> быстрая коагуляция пробы.



▣ Пробирки для КОАГУЛОЛОГИИ (СТАД)

- цитрат + теofilлин + аденозин + дипиридабол – предотвращают активацию тромбоцитов.

Область применения: мониторинг гепаринотерапии, исследование тромбоцитарных факторов (PF4, β -ТГ).



▣ Пробирки для стабилизации клеток крови (ACD)

- Na_3 -цитрат + лимонная кислота – буфер-антикоагулянт (для постоянства pH), декстроза – продлевает срок жизни клеток крови.

Область применения: иммуногематология, морфология клеток крови, цитохимические тесты, HLA-типирование, К-типирование.



Перемешивание пробирок

- сразу после заполнения кровью и извлечения из держателя



3 - 4 раза

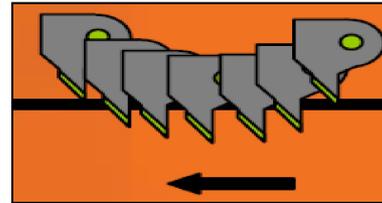
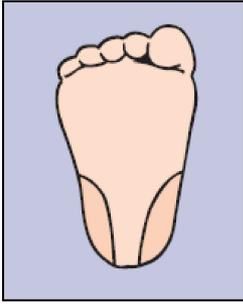
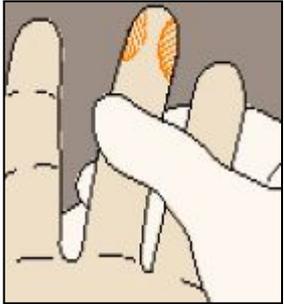
5 раз

8 раз (!)

необязат.

При слишком энергичном перемешивании возможны пенообразование и гемолиз !

Капиллярная кровь



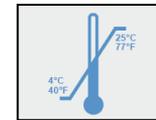
- При прохождении крови через поврежденную ткань **активируется свертывание**, поэтому длительность взятия должна быть минимальной.
- **Не допускается растекание крови по коже** пальца, по стенке пробирки и любой другой поверхности, так как идет контактная активация свертывания.
- Выделение крови из пальца ведет к агрегации тромбоцитов и попаданию в пробирку большого количества тканевой жидкости (тканевого фактора).

Стабильность анализов

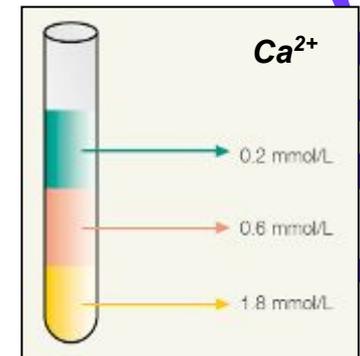
- **Электролиты, субстраты, большинство ферментов** в сыворотке крови - до 4 дней при +4 °С.
- **Гемоглобин, эритроциты** - в течение одного дня (в закрытой пробирке); изготовление **мазка крови** - в течение 2 часов.
- **Плазма крови** для исследования гемостаза – до 4 часов при комнатной температуре.
- **Газы крови** даже в закрытых пробирках нестабильны (< 15-30 мин); в ледяной воде сохраняются до 2 часов.

• При транспортировке в лабораторию образцы крови надо предохранять от тряски во избежание гемолиза.

• Температура ниже 4 °С и выше 30 °С может изменить содержание многих анализов.



• Сыворотка и бестромбоцитная плазма (в пластик. пробирках) могут быть заморожены. Таяние – в теплой воде, **после него – тщательное перемешивание!**



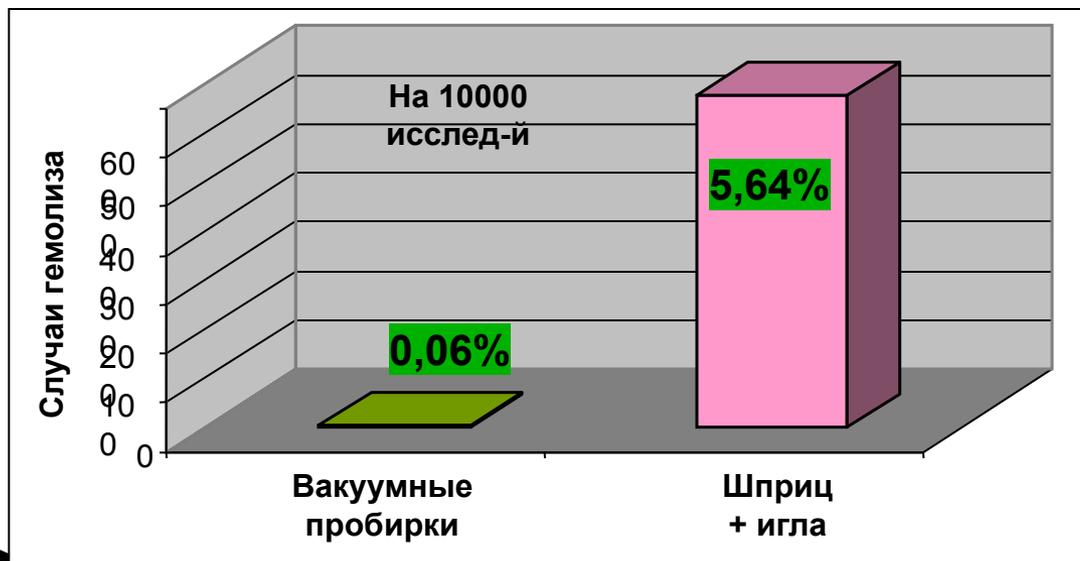
Транспортировка и хранение крови

- **Исследование крови на геманализаторах** - **либо сразу** после взятия (пока нет спонтанной агрегации тромбоцитов), **либо спустя 30 мин** (время «адаптации» ТЦ к антикоагулянту), но не позднее 6-8 час. Хранение крови - **при комнатной температуре!**
- Капиллярную кровь с ЭДТА исследуют **в теч. 4 час.** Изготовление мазков крови - не позднее 1-2 час после взятия.
- **При отсрочке анализа** пробы крови хранят при 4–8° С до одних суток. **Цельную кровь не замораживают!**
- Пробирки при транспортировке д.б. **в вертикальном положении.**



Перед анализом кровь нужно **согреть до комнатной температуры** (в теплой воде) **и тщательно перемешать!**

Гемолиз



Причины гемолиза *in vitro* (до 3,3% всех образцов!)

ВЗЯТИЕ КРОВИ

1. слишком тугой турникет
2. место пункции не просушено
3. слишком тонкая игла
4. неаккуратная пункция (гематома, попадание тканевой жидкости)
5. взятие и перенос крови шприцом
6. энергичное встряхивание вместо аккуратного перемешивания

ТРАНСПОРТ ОБРАЗЦОВ

1. Слишком высокая или слишком низкая температура, случайное замораживание образца
2. Тряска / вибрация при перевозке

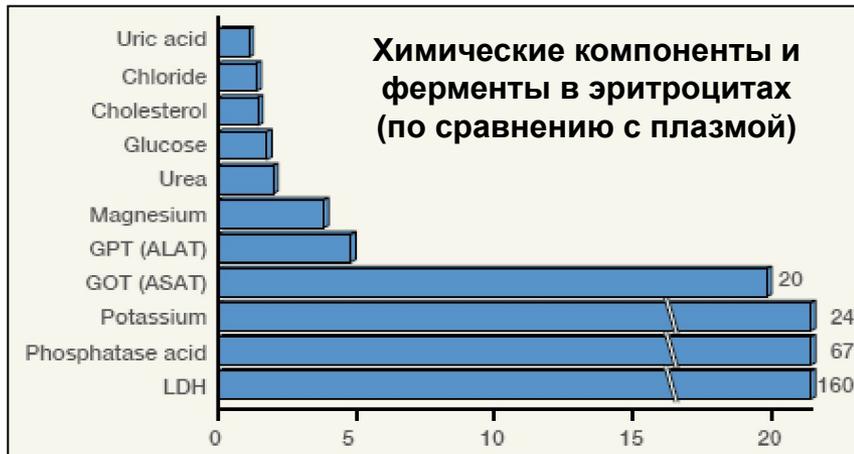
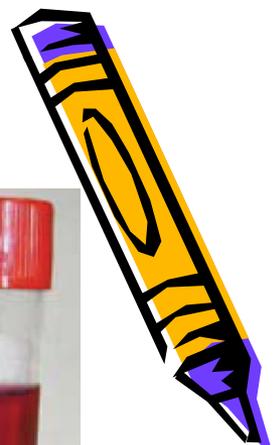
ОБРАБОТКА КРОВИ

1. слишком большая длительность / скорость центрифугирования
2. задержка отделения плазмы / сыворотки от осадка более чем на 2-3 часа

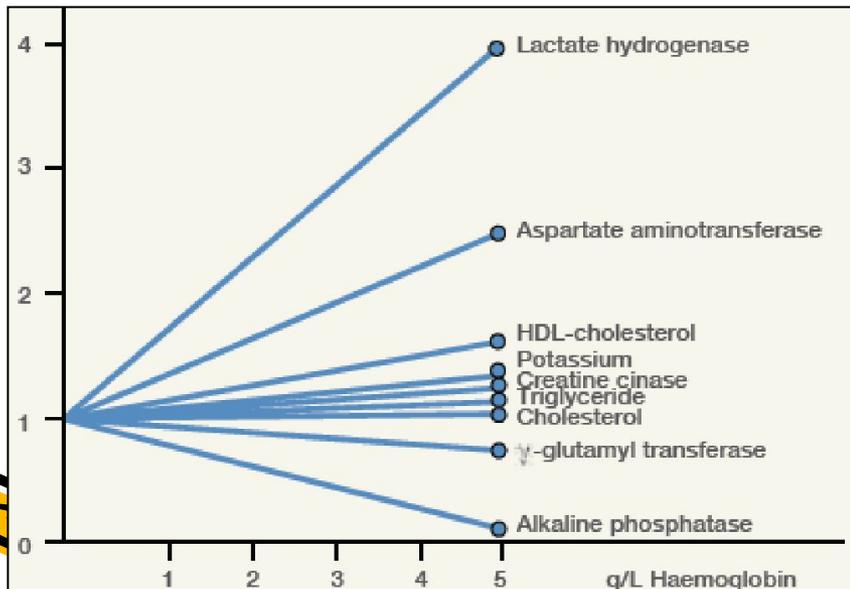
Мультицентровое исследование (Мумбаи, Индия, 2008 г.)

Ind J Clin Bioch 2008 23(2) 144-149

Последствия гемолиза



Изменения лабораторных параметров плазмы при гемолизе (уровень своб. Нб - до 5 г/л)



Гемолиз влияет на результаты многих исследований (гематология, биохимия, гемостаз, микробиология, гормоны...)

- \downarrow **RBC, HCT**; \uparrow **MCH, MCHC, Hb сыв.**,
- \uparrow **K^+ , ЛДГ, АСТ, АЛТ, сыв. железо, фосфат, общ. белок, альбумин, Mg, Ca, кислая фосфатаза...**

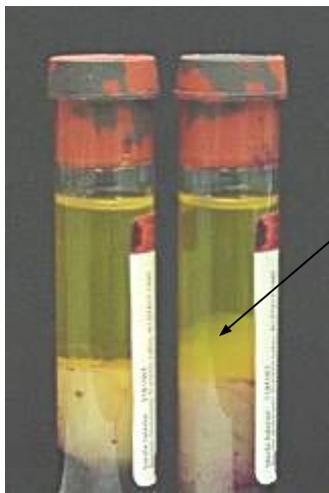
Недозаполнение пробирок кровью



| Тип пробы | Последствия |
|---------------------------------------|--|
| Сыворотка (без добавок) | Нехватка образца (объем забираемой крови д.б. в 2,5 раза > нужного объема сыворотки) |
| Сыворотка (с гелем) | Плохой гелевый барьер, нехватка образца |
| Плазма (с цитратом) | Замедление коагуляции (\uparrow АЧТВ, ПВ / МНО, \downarrow ПТИ...) |
| Плазма (с гепарином) | Ошибочные результаты из-за избытка гепарина (гормоны, антитела, белки...) |
| Цельная кровь (с сухим K_2 ЭДТА) | Изменения окрашивания и морфологии клеток, сдвиги MCV, MCH, MCHC... |
| Цельная кровь (с р-ром K_3 ЭДТА) | \downarrow НСТ, \downarrow количества Эр, Лц, Тц... |
| Цельная кровь (с SPS) | Замедление / отсутствие роста бактерий |

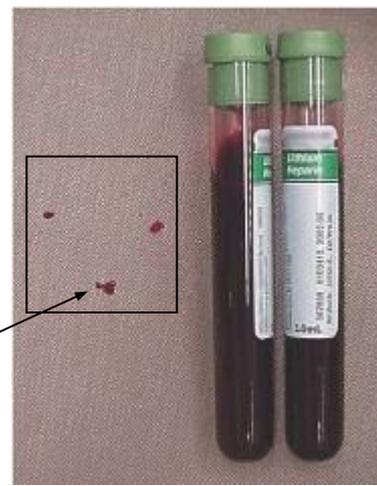


Плохое перемешивание образца



Неполное свертывание
– фибрин над гелем

Сыворотка

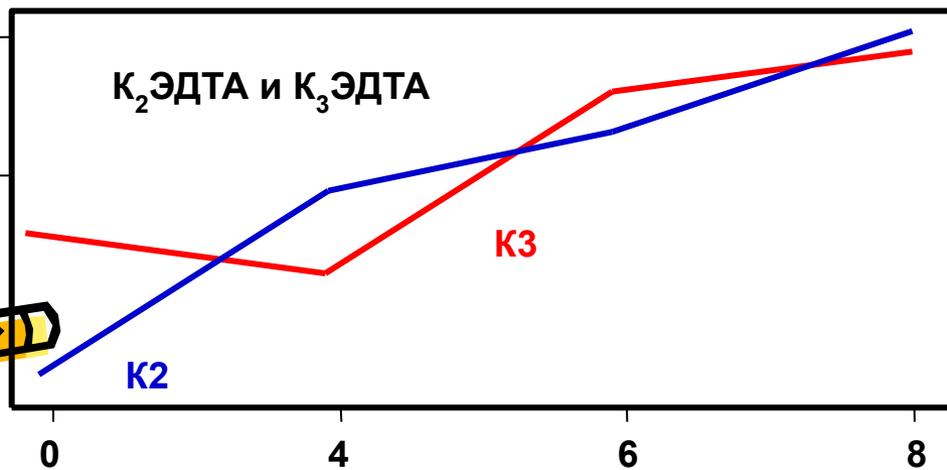


Микросгустки –
последствия
свертывания

Кровь + ЭДТА



Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$



Кол-во переворачиваний пробирки

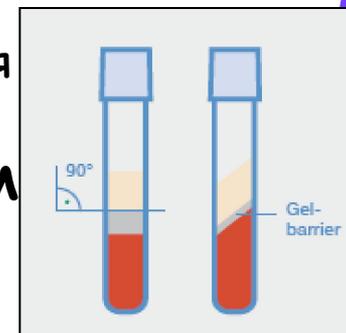


Центрифугирование пробирок с кровью

- При комнатной температуре ! (особенно для пробирок с гелем, так как его свойства меняются при сдвигах температуры).
- ЦФ сывороточных пробирок - после образования сгустка !!! (не менее 30 мин - 1 ч после взятия пробы).
- Не рекомендуется повторное центрифугирование проб (особенно с гелем).
- Осадок/сгусток отделять сразу после центрифугирования

$$N \text{ (об/мин)} = \sqrt{100000 \cdot RCF(g) / 1,12 \cdot R(\text{см})}$$

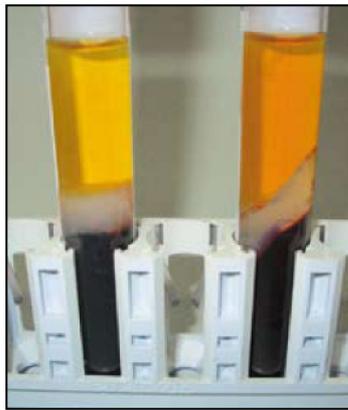
| | |
|---|--|
| Богатая ТЦ плазма (PRP) | 150 - 200 g, 5 мин |
| Бедная ТЦ плазма (PPP) | 1500 - 2000 g, 10 мин |
| Бестромбоцитная плазма (PFP) | 1500 - 2000 g, 10 мин (повторно), или 2500 - 3000 g, 20 мин |
| Микропробирки с гелем (для сыворотки) | 6000-15000 g, <u>90 сек</u> |
| Микропробирки с ЭДТА / гепарином (для плазмы) | 2000 g, <u>2 мин</u> |



Возможные ошибки центрифугирования



Вертик. положение пробирки до ЦФ (правильное)



ЦФ в горизонтальном и угловом роторе



Горизонтальное положение пробирки до ЦФ (сгусток по оси пробирки)



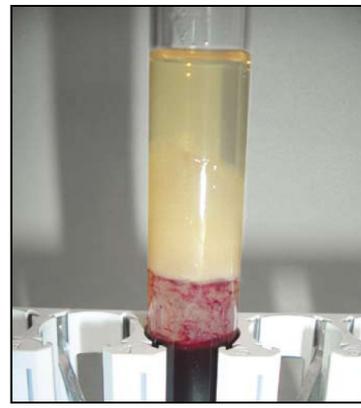
Горизонтальное положение пробирки при транспортировании + угловой ротор



Укороченное время ЦФ (слева - норма)



Заниженная скорость ЦФ (справа - норма)



Сывороточная проба: ЦФ сразу после взятия (не дожидаясь свертывания)

Критерии для отказа в принятии лабораторией биоматериала на исследование (пример)



- **Отсутствие этикетки** на пробирке / шприце;
- **Расхождение** между данными заявки и этикетки (инициалы, дата, время);
- **Невозможность прочесть** на заявке и/или этикетке данные пациента;
- **Отсутствие названия** отделения, номера истории болезни, ФИО врача, подписи процедурной сестры, перечня исследований;
- **Гемолиз** (кроме исследований, на которые он не влияет);
- **Взятый материал - в несоответствующей емкости** (другой антикоагулянт, добавка, консервант и др.);
- **Сгустки** в пробах с антикоагулянтом;
- **Недостаточное количество** биоматериала для анализа;
- **Истекло время стабильности** аналита в образце;
- **Материал взят в вакуумные емкости с истекшим сроком** годности.



**СПАСИБО
ЗА ВНИМАНИЕ !**

