

## **2. Тема занятия: Принципы клинической биохимии и КЛД. Организация контроля качества лабораторных исследований. Виды лабораторных исследований. Унификация биохимических методик. Стандартизация исследований.**

Правильную диагностическую информацию с помощью лабораторных исследований можно получить, зная нормальные величины данного лабораторного теста, пределы внутри- и межиндивидуальных колебаний и влияние на них различных факторов.

Источниками вариабельности показателей КЛД являются такие биологические факторы, как возраст, пол, масса и поверхность тела (особенно важны при обследовании детей); околосуточные месячные и сезонные ритмы; этническое происхождение; условия, в которых производится забор материала для анализа (положение тела, физическое напряжение, прием жидкости, курение, прием лекарств, стресс и др.), а также климатогеографические условия и экологическая обстановка в районе проживания больного.

Истинно нормальными (референтными) считают величины лабораторных показателей, установленные в группах тщательно обследованных здоровых лиц в возрасте 20–30 лет, а нормальными для контингента, отличающегося по каким-либо признакам (по полу, возрасту, профессии, месту обитания и т.д.), – величины этих показателей у здоровых лиц данного контингента. При этом в оценке отклонений величины какого-либо показателя учитывают и так называемую индивидуальную норму – величину показателя у данного пациента, установленную ранее при профилактических и диспансерных обследованиях. Сравнивая обнаруживаемые у обследуемого результаты лабораторных исследований с нормальными для него и для соответствующего ему контингента, а также с референтными величинами, можно получить наиболее достоверное суждение о характере обнаруженного отклонения. Для оценки результатов единичного анализа необходимо знание пределов колебания показателей в норме с вычислением верхней и нижней границ с помощью статистических методов.

**Цель занятия:** Ознакомление с принципами клинической биохимии, организацией контроля качества лабораторных исследований. Знать понятия скрининговое, профилактическое и дифференциально-диагностическое исследования, экспресс-диагностика, унификация биохимических методик.

### **Знать:**

- организацию контроля качества лабораторных исследований;
- понятие о скрининговом, профилактическом и дифференциально-диагностическом исследовании, экспресс-диагностике;
- понятие о стандартизации исследований.

### **Уметь:**

- оценить правильность ведения контроля качества в лаборатории;
- выбрать адекватные средства и методы контроля качества.

## **Контроль качества лабораторных исследований**

Для выявления и оценки систематических и случайных погрешностей результатов измерений, производимых в лаборатории, осуществляют внутрилабораторный и межлабораторный контроль качества лабораторных исследований.

При этом используют ряд критериев качества:

- **Точность измерений** – близость результатов к истинному значению измеряемой величины. Высокая точность соответствует несущественным погрешностям, как при систематических, так и при случайных измерениях.

- **Погрешность измерения** – отклонение результата измерения от истинного значения измеряемой величины.

- **Систематическая погрешность измерения** – погрешность, остающаяся постоянной или закономерно изменяющаяся при повторных измерениях одной и той же величины.

- **Случайная погрешность измерения** – погрешность, изменяющаяся случайным образом при повторных измерениях одной и той же величины.

- **Правильность измерений** – отсутствие систематических погрешностей в результатах (для контроля правильности используется только материал с исследованным содержанием компонентов).

- **Прецизионность** – степень близости (или степень разброса) результатов для серии измерений, выполненных по данной методике на различных пробах одного и того же однородного образца. Прецизионность может рассматриваться на трех уровнях: сходимость, внутрилабораторная прецизионность и воспроизводимость.

- **Сходимость результатов измерений** – отсутствие существенных различий между результатами измерений, выполняемых в одинаковых условиях (контроль сходимости и воспроизводимости результатов исследований может осуществляться с помощью контрольного материала с неисследованным содержанием).

- **Воспроизводимость результатов измерений** – отсутствие существенных различий между результатами измерений, выполняемых в отличающихся условиях (в различное время, в разных местах). Воспроизводимость результатов исследований характеризуется степенью их совпадения при многократном исследовании одной и той же пробы биологического материала. Воспроизводимость выражается величиной, обратной коэффициенту вариации результатов. Чем меньше коэффициент вариации, тем выше воспроизводимость. Контроль качества лабораторных исследований проводят путем сопоставления результатов измерений, производимых в лаборатории, с контрольным и определения величины отклонения.

Для контрольных измерений используют контрольные материалы: водные растворы стандартов, слитую сыворотку крови, приготавливаемую в самой лаборатории, биологический материал, изготовленный производственным путем как с исследованным, так и с неисследованным содержанием компонентов (сыворотка, плазма, клетки крови, моча, цереброспинальная жидкость и т.п.), материалы искусственного происхождения, специфические контрольные средства (мазки, микробиологические культуры, патогенные грибки, суспензии цист и т.п.).

Основными требованиями к контрольным материалам являются идентичность по физико-химическим свойствам анализируемому образцу; стабильность при длительном хранении; минимальная вариабельность состава и свойств внутри серии; пригодность для

выявления систематических и случайных погрешностей. Контроль сходимости и воспроизводимости результатов исследований осуществляется с помощью контрольного материала с неисследованным содержанием; для контроля правильности используется только материал с исследованным содержанием компонентов.

Внутрилабораторный контроль включает контроль сходимости, воспроизводимости и правильности измерений.

Воспроизводимость считают достаточной, если величина коэффициента вариации результатов для исследований субстратов не превышает 5%, а для определения активности ферментов – 10%, что соответствует процентному выражению отношения примерно 1/8 пределов нормальных колебаний исследуемых параметров к средней величине нормы. Для оценки воспроизводимости результатов удобно использовать контрольные карты, на которых отмечают повседневные результаты контрольных исследований. Для построения карты предварительно в течение 20 дней исследуют контрольный материал одной серии выпуска и результаты ежедневно регистрируют. Из полученных 20 результатов вычисляют среднюю величину и коэффициент вариации (рис.1).



**Рис.1. Виды статистических ошибок в системе лабораторных исследований.**

Если коэффициент вариации больше допустимого, проверяют весь ход анализа, устраняют причины неудовлетворительной воспроизводимости и повторяют предварительный этап. Контрольную карту строят для каждого контролируемого показателя и только для данной серии контрольного материала. Результаты ежедневного исследования контрольных проб той же серии в последующие дни наносят на карту в виде точки и используют для оценки воспроизводимости лабораторных исследований.

Контроль правильности результатов измерений проводят при условии хорошей их сходимости. Методами контроля могут быть сравнение результатов собственных определений с номинальным значением контрольных материалов; сравнение результатов с результатами референтного метода; участие в межлабораторном эксперименте по контролю качества; дополнительное исследование пробы материала, к которой предварительно добавлено точное количество чистого вещества; исследования проб с различными концентрациями. Полученные результаты обрабатывают статистически.

Межлабораторный контроль – это сравнительный контроль качества результатов исследований, полученных в ряде лабораторий при использовании единого контрольного материала. Он включает контроль воспроизводимости и правильности, осуществляется не реже чем один раз в квартал под методическим руководством контрольных центров республиканского, краевого и областного уровней. Контрольные центры определяют цели, задачи и порядок проведения контрольного эксперимента, собирают и изучают результаты контрольных определений и вырабатывают рекомендации по улучшению качества работы лаборатории.

Важной предпосылкой преемственности ведения больных в различных лечебных учреждениях (в поликлинике, больнице, в разных городах и т. д.) является унификация диагностических методов лаб. диагностики на уровне страны. Внедрение в клиническую и лабораторную практику международной системы единиц помогло унифицировать результаты методов лаб. диагностики в разных странах мира.

### **Виды лабораторных исследований**

В зависимости от клинических задач лабораторные исследования могут производиться однократно и многократно (в динамике), а также в процессе проведения функциональных или фармакологических тестов со стимуляцией или торможением этапов исследуемого вида обмена веществ, клеточных или гуморальных реакций либо других функций, выраженность или качество которых отражается в параметрах определяемого лабораторного показателя.

При массовых осмотрах населения, а также при первом контакте с больным в поликлинике или стационаре применяют многостороннее лабораторное обследование, которое не исключает целенаправленных исследований, проводимых при необходимости для уточнения диагноза.

Осуществляются также одномоментные массовые профилактические **скрининговые исследования** одного показателя, («screening» означает "просеивание"). Это профилактическое обследование крупных контингентов населения с помощью метода, обладающего высокой пропускной способностью, для выявления относительно небольшой группы повышенного риска, нуждающейся в дополнительном обследовании. Дообследование группы повышенного риска проводится методами, разрешающие способности которых позволяют осуществлять окончательную диагностику онкологического заболевания на ранних стадиях развития. Типичными примерами скрининговых методов являются анкетирование, флюорография, пальцевое исследование прямой кишки, пальпаторное исследование молочных желез, анализ кала на скрытую кровь, определение простатоспецифического антигена в крови, маркера СА15-3, выявления у детей генетической патологии (фенилкетонурии и других врожденных энзимопатий). Основные требования, предъявляемые к скрининговому методу: идеальный метод скрининга должен не только обладать высокими чувствительностью и специфичностью, но и быть безопасным, широко доступным и недорогим.

**Экспресс-методы** лабораторной диагностики – ускоренные методы лабораторных анализов, обеспечивающие проведение исследования в срок до 10–15 мин после получения материала. Экспресс-методы основаны на тех же или аналогичных химических реакциях, что и классические методы анализа. Широкое развитие экспресс-тестов стало возможным

на основе достижений клинической биохимии и промышленного производства наборов сухих реактивов (экспресс-тесты) для определения различных ингредиентов крови, мочи и других биологических жидкостей.

Различают монотесты, т.е. сухие реактивы для определения в биожидкости какого-либо одного вещества, и политесты – комбинированные реактивные полоски, на которых имеется несколько индикаторных зон, предназначенных для исследования 5 и более биохимических параметров одновременно. Результаты анализа могут быть только качественными или позволяют определить концентрацию вещества в исследуемой жидкости, т.е. являются количественными. Наиболее распространены экспресс исследования мочи и крови. Использование таких тестов особенно ценно в отделениях интенсивной терапии и реанимации, где в процессе круглосуточного наблюдения за больным необходим частый контроль динамики ряда лабораторных показателей, отражающей состояние больного и эффективность проводимого лечения. Для проведения экспресс тестирования как правило не требуется сложной аппаратуры, поэтому их целесообразно использовать в приемных отделениях больниц, в амбулаторной практике, при посещении больных на дому врачом или средним медицинским персоналом. Они могут применяться специально проинструктированными больными в порядке самонаблюдения («карманная» лаборатория). С помощью экспресс-тестов проводят массовые (скрининговые) обследования и динамические наблюдения за лицами, нуждающимися в медицинском патронировании. Одним из направлений перспективного развития экспресс-исследований является внедрение микроэкспресс-методов, позволяющих использовать минимальный объем биологических жидкостей для анализа.

### **Основные разделы лабораторных исследований**

**Клиническая биохимия** – один из наиболее обширных разделов лабораторной медицины, включающий исследования содержания органических и неорганических веществ, образующихся в процессе биохимических реакций, а также активности ферментов в сыворотке, плазме, крови, моче, ликворе и других биологических жидкостях. Современные приборы для биохимических исследований автоматически определяют одновременно до 20–30 показателей, используя несколько микролитров крови. Аналитические возможности современных лабораторий практически сняли вопрос «как определить?», так как в настоящее время имеются возможности определять вещества, содержащиеся в биологическом материале в концентрациях  $10^6$ – $10^9$  Моль на литр, а их перечень включает несколько сотен органических и неорганических компонентов. Широкое внедрение методов «сухой химии» позволяет перенести ряд биохимических анализов из пробирки на специальные тест-полоски и без приборов определять многие показатели почти мгновенно.

Биохимические анализы крови и других биологических жидкостей составляют около 40% всех лабораторных анализов. Они могут характеризовать как состояние всего организма, например, показатели кислотно-щелочного равновесия, так и отдельных органов, например, органоспецифические ферменты. Поскольку обмен веществ между органами и тканями опосредован кровотоком, в плазме крови содержатся в разных концентрациях все вещества, поступающие в организм и синтезирующиеся в нем.

**Клинико-лабораторная иммунология** – раздел лабораторной медицины, обеспечивающий определение на основе комплекса показателей степени противoinфекционной и противоопухолевой защиты организма, а также лабораторную диагностику и контроль эффективности терапии аллергических заболеваний. Человек постоянно находится в окружении огромного количества различных патогенных бактерий и вирусов, которые содержатся в воздухе, воде, почве, на окружающих предметах, продуктах питания и теле самого человека. Они могут вызывать множество заболеваний, но происходит это в течение жизни относительно редко, так как в организме имеется сложная система защиты от чужеродных агентов – иммунная система. Организм человека можно сравнить с государством, располагающим большой хорошо вооруженной армией – иммунитетом. Огромное число «солдат» – иммунокомпетентных клеток – циркулирует в крови, «патрулируя» все органы и ткани и ликвидируя не только инфекционные агенты (микробы, их токсины, вирусы и т.д.), но и очищая организм от патологически измененных, злокачественных, отмирающих и пересаженных клеток (органов). Таким образом, основной функцией иммунной системы является распознавание и уничтожение тел и веществ чужеродной природы. Определение иммунного статуса человека включает комплекс анализов, дающих качественную и количественную характеристику иммунитета и становится необходимым условием успешного лечения очень многих заболеваний.

#### **Клиническая микробиология (бактериология, микология, вирусология)**

Лабораторные микробиологические исследования проводятся для выявления возбудителей инфекционно-воспалительных процессов, определения их чувствительности к лекарственным препаратам и контроля за эффективностью лечения. В последние десятилетия в этой области достигнут большой прогресс благодаря широкому внедрению иммунологических и молекулярно-генетических методов, позволяющих с высокой точностью определять специфические поверхностные антигены и фрагменты ДНК вирусов, бактерий, грибов, простейших с помощью реакции иммунофлюоресценции (РИФ), иммуноферментного анализа (ИФА), полимеразной цепной реакции (ПЦР), ДНК-зондов. Это дает возможность точно определять возбудителей, которые с помощью культуральных и серологических методов выявлены быть не могут.

#### **Цитология (экссудативная и пункционная)**

Цитологическая диагностика заключается в изучении строения и выявлении патологических изменений в структуре клеток, полученных из экссудатов, синовиальной и спинномозговой жидкости, с поверхности слизистых оболочек, а также из тканей и органов при их пункционной биопсии. Пункционная цитология является основным методом дооперационной и операционной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований. Современные методы автоматизированной цитофотометрии, гистохимии, радиоизотопного исследования делают цитологический анализ оперативным и точным.

#### **Клиническая молекулярная биология и диагностическая генетика**

Исследует генетический материал – хромосомы, гены, нуклеиновые кислоты для выявления разных типов мутаций, лежащих в основе наследственных заболеваний и пороков развития. Современные методы ДНК-диагностики – гибридизационный анализ, амплификация геномов, полимеразная цепная реакция, ДНК-зонды и другие незаменимы в пренатальной диагностике, а также широко используются для определения вирусов и бактерий.

## **Клиническая токсикология**

Обеспечивает лабораторную диагностику острых и хронических отравлений, вызванных органическими и неорганическими веществами, лекарственными препаратами и т.д. Высокая степень загрязнения окружающей среды, производства с вредными условиями, техногенные аварии и многие другие факторы определяют современную значимость этой области медицины.

## **Клинико-лабораторная паразитология**

Выявляет и идентифицирует возбудителей паразитарных заболеваний – насекомых, гельминтов, простейших. Такие заболевания имеют определенные территориальные и социальные особенности распространения, но в связи с высокой миграционной активностью населения у людей появляются паразитарные заболевания, не характерные для мест постоянного проживания, поэтому лабораторная паразитология в настоящее время сохраняет высокую актуальность и значимость.

## **Лабораторный контроль (мониторинг) лекарственной терапии**

Используя комплекс биохимических, физико-химических, цитологических и других методов осуществляет контроль за соотношением дозы и эффекта лекарственных препаратов, их индивидуальной фармакокинетикой. Такой лабораторный контроль распространен еще недостаточно широко, хотя необходим и эффективен при лекарственной терапии опухолей, неотложных состояний, длительных хронических заболеваниях и т.д. Современные автоматизированные системы регистрации обеспечивают высокую скорость и точность анализов.

## **Клинические анализы крови**

Когда говорят об анализах крови, всегда нужно иметь в виду, что собственно кровь является только частью системы, включающей в себя еще органы кроветворения (костный мозг, селезенка, лимфотические узлы, печень) и кроверазрушения (селезенка, ткани). Все звенья в этой системе взаимосвязаны и взаимозависимы.

Костный мозг является органом, в котором рождаются и созревают клетки крови. Через определенное время клетки поступают в кровеносное русло, в котором эритроциты живут около 120 суток, тромбоциты – 10, а нейтрофилы всего около 10 часов. Причем, если эритроциты и тромбоциты функционируют в кровеносном русле, то гранулоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) и макрофаги – еще и в тканях.

Подсчет количества клеточных элементов, который может производиться, как в ручную, с помощью микроскопа, так и автоматически, позволяет определить функциональное состояние костного мозга, диагностировать целый ряд заболеваний, связанных с нарушением его деятельности.

Кроме того, определяя количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и других элементов, концентрацию гемоглобина и скорость оседания эритроцитов (СОЭ), можно выявить наличие воспалительного заболевания (пневмонии, ревматизма, полиартрита, туберкулеза и др.).

## **Исследования свертывающей системы крови**

Кровь – уникальная жидкая ткань, обладающая не только текучестью, но и способностью свертываться (коагулировать), то есть сгущаться и образовывать плотные сгустки (тромбы). Свойство текучести предотвращает слипание клеток, и они легко перемещаются по всем сосудам, включая самые тонкие – капилляры. Благодаря свертывающей способности при повреждении мелких и средних сосудов кровотечение через некоторое время самостоятельно останавливается, так как брешь в сосуде закрывается тромбом. Как текучесть, так и свертываемость крови обеспечивается многими веществами и клетками, которые, взаимодействуя между собой, образуют систему гемостаза.

Расстройства гемостаза могут быть причинами самостоятельных заболеваний, но чаще всего они играют очень серьезную роль в течении, а иногда и в исходе других заболеваний, в первую очередь, травм, хирургических вмешательств, сердечно-сосудистых заболеваний, обширных воспалений, родов. Поэтому определение показателей свертывающей системы крови (гемостаза) является очень информативным для оценки состояния, прогноза и эффективной терапии многих острых и хронических заболеваний.

### **Исследования эндокринной системы**

Железы внутренней секреции или эндокринные железы – гипофиз, эпифиз, щитовидная и паращитовидные железы, надпочечники, поджелудочная железа, мужские и женские половые железы – получили свое название в связи с тем, что выделяют синтезируемые ими вещества – гормоны – непосредственно в кровь. Это обеспечивается очень развитой сосудистой сетью желез.

Продукция гормонов находится под контролем нервной системы, которая через гипоталамус осуществляет регуляцию синтеза гормонов в гипофизе. Гормоны периферических желез, в частности мозгового слоя надпочечников, в свою очередь, контролируют секрецию гипоталамических гормонов. Благодаря такому тесному взаимному влиянию и контролю железы внутренней секреции образуют единую эндокринную систему. Поэтому повышение или снижение содержания гормона в организме может возникать не только из-за изменений в самой железе (опухоль, атрофия, склероз и др.), но и в результате нарушения регуляции со стороны других систем.

Получить информацию об активности эндокринной железы можно путем непосредственного определения уровня соответствующего гормона, промежуточных продуктов его синтеза или превращения, а, также, определяя биохимические, физиологические и другие параметры процессов, на которые влияет тот или иной гормон.

### **Исследования функции почек**

Почки участвуют в удалении конечных продуктов обмена веществ, чужеродных и ядовитых веществ, поступающих в организм из внешней среды, поддерживают постоянство в крови осмотически активных веществ, кислотно-щелочное равновесие, участвуют в регуляции водного баланса, продуцируют вещества, регулирующие артериальное давление, эритропоэз и т.д. В конечном итоге, основная функция почек – образование мочи.

Пробы, используемые для изучения функции почек, в одних случаях позволяют оценивать их способность концентрировать мочу и выводить воду, в других – характеризовать отдельные процессы, связанные с мочеобразованием (функцию клубочков, извитых канальцев, исследовать почечный кровоток и т.д.



## **Исследования функции печени**

Печень занимает центральное место в процессах обмена веществ организме человека. Большое количество крови, проходящее через печень, позволяет этому органу выделять в кровоток и извлекать из него многие биологические вещества. Выделение желчи – лишь одна из функций печени.

Печень участвует в синтезе белков, углеводов, жиров, в пигментном обмене, образовании мочевины, креатина и целого ряда других соединений. Велика роль печени в обезвреживании различных токсических веществ путем образования безвредных комплексов, удаляемых из организма через почки.

## **Маркеры опухолей**

Маркеры опухолей – белки с углеводными или липидными компонентами, которые выявляются в опухолевых клетках или сыворотке крови, являются показателем злокачественного процесса в организме. Эти белки обладают равной степенью специфичности – одни могут появляться при нескольких видах опухолей разной локализации, другие – только при каком-то одном определенной злокачественном новообразовании. Различна частота их обнаружения и диагностическая значимость, так как в 10–35% случаев (для разных опухолей эти величины различны) белок-маркер может не выявляться при наличии опухоли.

Опухолевые маркеры используются для контроля за течением заболевания и эффективности проводимой химиотерапии, хирургического и биологического лечения. Динамическое наблюдение за уровнем опухолевого маркера позволяет делать заключение о полной остановке или прогрессировании процесса, появлении метастазов. Нередко повышение концентрации опухолевого маркера отмечается значительно раньше каких-либо клинических признаков заболевания.

В соответствии с Государственным стандартом, во всех отраслях науки и техники, в том числе и в медицине, обязательным является применение единиц Международной системы единиц (СИ). Единицей объема в СИ является кубический метр (м<sup>3</sup>). Для удобства в медицине допускается применять единицу объема литр (л; 1 л = 0,001 м<sup>3</sup>).

Единицей количества вещества, содержащего столько же структурных элементов, сколько содержится атомов в нуклиде углерода <sup>12</sup>C массой 0,012 кг, является моль, т. е. моль – это количество вещества в граммах, число которых равно молекулярной массе этого вещества.

Количество молей соответствует массе вещества в граммах, деленному на относительную молекулярную массу вещества. 1 моль = 10<sup>3</sup> ммоль = 10<sup>6</sup> мкмоль = 10<sup>9</sup> нмоль = 10<sup>12</sup> пмоль. Содержание большинства веществ в крови выражается в миллимолях на литр (ммоль/л).

Только для показателей, молекулярная масса которых неизвестна или не может быть измерена, поскольку лишена физического смысла (общий белок, общие липиды и т. п.), в качестве единицы измерения используют массовую концентрацию – грамм на литр (г/л).

Активность ферментов в единицах СИ выражается в количествах молей продукта (субстрата), образующихся (превращающихся) в 1 с в 1 л раствора – моль/(с·л), мкмоль/(с·л), нмоль/(с·л).

## **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ**

1. Организация контроля качества лабораторных исследований.

2. Референтные величины и средний показатель.
3. Скрининговое, профилактическое и дифференциально-диагностическое исследования. Экспресс-диагностика.
4. Основные единицы СИ в биохимии.
5. Средства контроля качества. Методы контроля качества (контроль воспроизводимости, контроль правильности). Внешняя оценка качества.
6. Основные статистические критерии в контроле качества лабораторных исследований.
7. Унификация биохимических методик.
8. Критерии унификации: аналитические, технико-экономические, диагностическая ценность. Стандартизация исследований.

### **САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ**

1. Записать протокол практического занятия с указанием цели и задачи, методик и принципов контроля качества в лаборатории.
2. Записать способы взятия и подготовки мочи для общеклинических и биохимических исследований. Дать заключение с внесением в протокол.
3. Записать основные принципы скринингового, профилактического и дифференциально-диагностических исследований. Экспресс-диагностики.
4. Записать основные единицы СИ в клинической биохимии.

