

1. Тема занятия: Основы организации лабораторной службы. Клиническая биохимия в структуре клинико-диагностических исследований. Основные задачи и методы лабораторного обследования, клиническая характеристика лабораторных тестов. Получение и подготовка крови и мочи для лабораторного исследования.

Клиническая лабораторная диагностика представляет собой медицинскую диагностическую специальность, состоящую из совокупности исследований *in vitro* биоматериала человеческого организма, основанных на использовании гематологических, общеклинических, паразитарных, биохимических, иммунологических, серологических, молекулярно-биологических, бактериологических, генетических, цитологических, токсикологических, вирусологических методов, сопоставления результатов этих методов с клиническими данными и формулирования лабораторного заключения.

В клинической медицине методы КЛД применяют для:

- подтверждения клинического диагноза или его уточнения,
- установления причины болезни (при генетических, инфекционных заболеваниях, отравлениях),
- характеристики формы, тяжести течения и определения прогноза болезни,
- выбора этиологической и патогенетической терапии,
- контроля за результатами лечения,
- обнаружения патологии при скрининговых исследованиях в диспансеризируемых контингентах населения.

Эти цели определяют КЛД как самостоятельную научную клиническую дисциплину, основными задачами которой являются:

- 1) разработка методов лабораторных исследований;
- 2) разработка требований к качеству выполнения аналитических методов и средств обеспечения этих требований;
- 3) установление пределов нормальных индивидуальных колебаний каждого исследуемого параметра состава и свойств биологических жидкостей и тканей;
- 4) изучение закономерных связей лабораторно выявляемых патологических отклонений с сущностью патологического процесса при конкретных заболеваниях;
- 5) установление диагностической, дифференциально-диагностической и прогностической ценности отдельных лабораторных тестов и их комбинаций;
- б) создание диагностических лабораторных программ для оптимизации диагностики.

Первые три задачи выполняются специалистами лабораторного дела, остальные – в совместной работе с клиницистами.

В соответствии с объектами и методами исследования в КЛД выделяют следующие субдисциплины:

- Клиническая биохимия
- Гематология
- Цитология
- Лабораторная генетика
- Общеклинические исследования
- Иммунология
- Изосерология
- Молекулярная биология
- Бактериология

- Паразитология
- Вирусология
- Токсикология
- Коагулология

Цель занятия: Знакомство с основными принципами клинической лабораторной диагностики. Знание методов получения и подготовки биоматериала для лабораторного исследования.

Знать:

- основы организации лабораторной службы;
- цели, задачи и место клинической лабораторной диагностики в практической медицине;
- понятия диагностической чувствительности и специфичности теста;
- основные принципы получения биоматериала для биохимического исследования

Уметь:

- оценить правильность получения биоматериала для биохимических исследований,
- рассчитать диагностическую чувствительность и специфичность теста.

Для правильного выбора метода КЛД и интерпретации полученных показателей необходимо знание возможностей каждого из методов, зависимости результатов анализа от условий взятия исследуемого материала, его транспортировки, а также от соблюдения правил выполнения анализов.

Надежность результатов зависит от качества применяемых лабораторией методов, приборов, реактивов, калибровочных материалов, от тщательности работы персонала. Если отклонение лабораторных показателей обусловлено патологией, то при повторных исследованиях в большинстве случаев выявляются повторяемость и направленность отклонений. Для некоторых форм патологии характерны изменения нескольких лабораторных показателей, например, при острых воспалительных процессах одновременно могут изменяться количество лейкоцитов в крови, СОЭ, содержание ряда ферментов и др.

Некоторые лабораторные тесты специфичны для нарушений деятельности определенных органов или для определенного вида патологии (например, органоспецифические изоферменты, парапротеины при миеломной болезни); однако большая часть тестов дает результаты, которые имеют лишь вероятностный диагностический характер. Так, повышение СОЭ отмечается и при бактериальном воспалении, и при аутоиммунном процессе, и при опухоли. В оценке пригодности лабораторного теста для диагностики определенной формы патологии используют критерии диагностической специфичности, чувствительности, эффективности лабораторного теста и применяемого метода исследования. При этом учитывают частоту как истинных, так и ложноположительных и ложноотрицательных результатов.

- Диагностическая чувствительность теста при определенной болезни представляет собой процентное выражение частоты только истинно положительных результатов теста у больных данной болезнью. Например, рассмотрим метод исследования, обладающий 90% чувствительностью. Если 100 человек, страдающих данным заболеванием, пройдут обследование с помощью этого метода, он позволит выявить заболевание у 90 из 100 пациентов. Остальные 10 обследуемых также страдают этим заболеванием, но метод

исследования не может его выявить. Для этих 10% выявленные «нормальные» результаты исследования окажутся ложноотрицательными. Чувствительность методов исследования приобретает особенно большое значение в случаях, когда требуется исключить наличие особо опасного инфекционного заболевания. Чем чувствительнее данный метод исследования, тем реже он дает "ложноотрицательные" результаты. Ложноотрицательными называют результаты, не позволяющие выявить имеющееся у пациентов заболевание.

- Диагностическая специфичность теста при определенной болезни – процентное выражение частоты истинно отрицательных результатов теста у лиц, не страдающих данной болезнью. Например, рассмотрим метод исследования, обладающий 90% специфичностью. Если этим методом обследовать 100 человек, не страдающих искомым заболеванием, только у 90 из этих 100 здоровых людей результаты исследования окажутся «нормальными» (свидетельствующими об отсутствии заболевания). У остальных 10 человек, также не страдающих заболеванием, результаты исследования будут показывать, будто оно имеется. Для этих 10% обследуемых такое «отклонение результатов исследования от нормы» на самом деле является ложно-положительным результатом. Специфичность особенно важна для исследований, используемых при подтверждении диагнозов, требующих применения тяжелых методов лечения. Чем специфичнее данный метод исследования, тем реже он дает "ложно-положительные" результаты. Ложно-положительные результаты исследования могут привести к неправильному диагнозу и назначению ненужных и, возможно, ухудшающих качество жизни пациента диагностических и лечебных процедур.

Диагностическая значимость положительных результатов выражается процентным отношением истинно положительных к общему числу положительных результатов, включающему также и ложноположительные. Диагностическая значимость отрицательных результатов представляет собой процентное отношение истинно отрицательных результатов к общему числу отрицательных результатов. Диагностическая эффективность теста выражается процентным отношением истинных (и положительных, и отрицательных) результатов теста к общему числу полученных результатов. В расчеты перечисленных характеристик лабораторного теста вводится поправка на частоту заболевания данной болезнью среди общего числа обследованных.

Технические средства для количественных и качественных исследований

К ним относят оптические визуальные и фотометрические приборы для регистрации колориметрических, поляриметрических и других световых характеристик различных растворов, суспензий и эмульсий: колориметры, фотоколориметры, нефелометры, поляриметры, фотометры, спектрофотометры и др. Колориметры служат для определения светопоглощения в различных участках светового спектра.

Эти методы основываются на том, что различные вещества имеют максимум светопоглощения в определенных участках спектра.

Наиболее широко распространенными приборами для морфологических исследований (определения формы, размеров, строения тканей, клеток и других структур живого организма) являются различные микроскопы.

В гематологических исследованиях применяются различные счетчики клеток крови, например, для измерения концентрации эритроцитов и лейкоцитов в суспензиях крови – кондуктометрические гемоцитометры, для определения концентрации гемоглобина в крови – фотоэлектрические гемоглобинометры, автоанализаторы морфологические и др. Эти и

аналогичные им приборы в крупных лабораториях диагностических центров заменили трудоемкие процессы подсчета клеток крови и определения содержания гемоглобина, распределения клеток по размерам и т. д. Для определения групповой и резус-принадлежности крови, проведения серологических реакций используют различные автоматизированные устройства.

Оснащение современных лабораторий автоматизированными и механизированными устройствами постепенно вытесняет ручные и визуальные методы исследования, обеспечивает более высокую точность и воспроизводимость результатов определений, увеличивает производительность труда лаборантов, что особенно важно в связи с постоянным ростом числа выполняемых в лабораториях анализов, появлением новых методик и расширением количества исследуемых показателей.

Условия взятия материала для клинических лабораторных исследований

Наиболее распространенным материалом для лабораторных исследований является кровь, моча и некоторые другие биологические жидкости.

Взятие материала для лабораторных исследований должно проводиться **до принятия обследуемым пищи (натощак)**. Последний прием пищи за 8–12 часов (12 часов для исследований липидного спектра) до взятия. Исключением из этого правила являются исследования, которые проводятся при неотложных состояниях, в любое время, но с учетом этого фактора.

Время взятия с 7 до 9 ч утра при плановых исследованиях и в любое время для срочных случаев диагностики (неотложные состояния). Не допустим забор крови для плановых биохимических исследований накануне вечером.

Лекарственные средства существенно влияют на результаты лабораторных исследований различным образом. Поэтому при подготовке обследуемых к проведению лабораторных исследований приняты следующие подходы:

- лекарственные средства, мешающие определению компонентов, исключаются до взятия биоматериала, если они даются не по жизненным показаниям;
- утренний прием лекарственных средств проводится только после взятия биоматериала;
- взятие крови с диагностической целью проводится перед проведением инфузии лекарственных средств и растворов.

Взятие биоматериала осуществляется **до проведения диагностических или лечебных процедур**: операций, инфузий, переливаний крови, растворов, пункций, инъекций, биопсий, общего массажа тела, эндоскопии, физических нагрузок, выполнения ЭКГ, рентгеновского обследования.

Во время проведения глюкозотолерантного теста (тест с нагрузкой глюкозой) не должно проводиться никаких других манипуляций, в том числе диагностических.

Значительная физическая и мышечная нагрузка должны быть исключены как минимум за 3 дня до взятия биоматериала.

Для исключения **влияния изменения положения тела** обследуемый должен находиться в покое, сидеть или лежать не менее 5 мин в связи с изменением концентрации ряда компонентов при переходе пациента из горизонтального в вертикальное положение. Особенно это важно при исследовании показателей кислотно-основного равновесия и активности ферментов. Предпочтительно, за исключением тяжело больных, кровь у пациентов должна забираться в положении сидя.

При динамическом наблюдении за пациентом взятие материала нужно проводить в идентичном положении тела.

При гормональных исследованиях у женщин репродуктивного возраста (примерно с 12–13 лет и до наступления климактерического периода) на результаты влияют физиологические факторы, связанные со стадией менструального цикла. Поэтому при подготовке к обследованию на гормоны ФСГ (фолликулостимулирующего гормона), ЛГ (лютеинизирующего гормона), пролактин, эстриол, эстрадиол, прогестерон следует указать фазу цикла. При проведении исследования на половые гормоны нужно строго придерживаться рекомендаций лечащего врача о дне менструального цикла, в который необходимо сдать кровь (на ФСГ, ЛГ, эстрадиол, тестостерон на 6–7 день менструального цикла).

При контроле лабораторных показателей в динамике рекомендуется проводить повторные исследования в одинаковых условиях – в одной лаборатории, сдавать кровь в одинаковое время суток и пр.

Получение крови для клинических лабораторных исследований

1. Нативная венозная кровь, взятая из крупных вен (чаще из локтевой) без применения антикоагулянтов.

2. Венозная кровь с добавлением антикоагулянтов.

3. Капиллярная кровь из пальца для определения глюкозы, общего анализа крови (ОАК) и других компонентов;

4. Артериальная кровь, взятая из крупных артерий (чаще бедренной или подключичной) – для определения газов крови.

Венозная кровь

Использование венозной крови для биохимических исследований наиболее предпочтительно.

В настоящее время взятие венозной крови осуществляется одноразовым шприцем с толстой иглой в стеклянную или пластиковую пробирку или вакуумными системами промышленного производства, например, Вакутайнером. В зависимости от того, какой материал необходимо получить (сыворотку или плазму), кровь собирают в чистые сухие центрифужные пробирки без добавок (для получения сыворотки), либо с добавлением антикоагулянтов (для получения плазмы).

Капиллярная кровь

Капиллярная кровь чаще всего используется для определения глюкозы или общего анализа крови. Для взятия пробы капиллярной крови используют стерильные скарификаторы-копья одноразового применения или лазерные перфораторы. Между объемом получаемой крови и глубиной прокола имеется прямая зависимость. В связи с этим скарификатор должен выбираться в зависимости от места прокола и количества крови, необходимого для выполнения различных исследований с лезвиями разных размеров.

Свернувшаяся и гемолизированная пробы не подлежат исследованию. Количество собираемой крови зависит от количества назначенных анализов и требуемых для них объемов биоматериала. Для биохимии хотя бы 6 мл, для коагулограммы – 4,5 мл.

Основные химические добавки, используемые при взятии крови на анализ:

Этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) – антикоагулянт, который предохраняет кровь от свертывания, связывая и эффективно удаляя ионы кальция, присутствующие в плазме

(кальций необходим для свертывания крови). ЭДТА также защищает клетки крови от разрушения. Добавляют в пробирки для сбора крови с целью полного подсчета клеток крови и выполнения некоторых других гематологических тестов

Гепарин (в виде натриевой или калиевой соли этой кислоты, т. е. натрий гепарина или калий гепарина) – антикоагулянт, который предохраняет кровь от свертывания, ингибируя превращение протромбина в тромбин. Добавляют в пробирки для сбора крови с целью проведения биохимических исследований, для которых необходима плазма. Антикоагулянтные свойства гепарина используются в терапии

Цитрат (в виде натриевой соли, т. е. цитрата натрия) – антикоагулянт, который предохраняет кровь от свертывания, связывая ионы кальция (подобно ЭДТА). Добавляют в пробирки для сбора крови с целью изучения процессов свертывания

Оксалат (в виде натриевой или аммонийной соли, т. е. оксалата натрия или аммония) – антикоагулянт, который предохраняет кровь от свертывания, связывая ионы кальция (подобно ЭДТА). Используют вместе с фторидом натрия для определения содержания глюкозы в крови

Фторид натрия – это ферментный яд, который прекращает метаболизацию глюкозы в крови после ее сбора, т. е. сохраняет ее концентрацию. Используется вместе с оксалатом аммония специально для определения содержания глюкозы в крови

Сыворотка

Сыворотку получают из спонтанно свернувшейся цельной крови путем центрифугирования (1000–1200 об в течение 10–15 минут). Она не содержит факторов свертывания крови. Центрифугирование свернувшейся крови с целью получения сыворотки следует выполнять, только убедившись в том, что кровь полностью свернулась (в нормальных условиях кровь свертывается около 30 минут).

Плазма

Плазма получается из крови путем отделения клеток крови. В противоположность сыворотке она содержит факторы свертывания крови, т. е. является бесклеточной надосадочной жидкостью, получаемой при центрифугировании крови, свертываемость которой ингибирована добавлением антикоагулянтов. После этого полученную плазму (верхняя фаза) отобрать индивидуальным наконечником с фильтром (аэрозольным барьером) в количестве не менее 1 мл в сухую стерильную пластиковую пробирку типа Эппендорф.

Получение мочи для клинических лабораторных исследований

Сбор мочи проводится после тщательного туалета наружных половых органов, чтобы в мочу не попали выделения из них.

Моча, собранная для анализа, может храниться не более 1,5–2 часов (обязательно на холоде). Длительное стояние ведет к изменению физических свойств, размножению бактерий и разрушению элементов осадка мочи. При этом рН мочи будет сдвигаться к более высоким значениям из-за аммиака, выделяемого в мочу бактериями. Микроорганизмы потребляют глюкозу, поэтому при глюкозурии можно получить отрицательные или заниженные результаты. Желчные пигменты разрушаются при дневном свете. Наиболее приемлемый способ сохранения мочи - охлаждение (можно хранить в холодильнике, но не доводить до замерзания). При охлаждении не разрушаются форменные элементы, но возможно влияние на результаты определения относительной плотности.

Далее сбор мочи, в зависимости от вида исследования, имеет свои особенности.

1. Для проведения **общего анализа мочи** собирают только утреннюю мочу, взятую в середине мочеиспускания, так как она более концентрированная и с ней вымываются патологические элементы, скопившиеся в почках и в мочевыводящих путях за ночь.

2. Для проведения **пробы по Зимницкому** (оценка концентрационной способности почек) за сутки собирают 8 порций мочи. Условием правильного проведения пробы, является исключение избыточного потребления воды. Необходимо предупредить больного о том, что желательнее, чтобы количество принимаемой жидкости в день сбора мочи не превышало 1–1,5 л. В остальном пациент остается в обычных условиях, принимает обычную пищу, но учитывает количество выпиваемой за сутки жидкости.

Заранее необходимо подготовить 8 чистых сухих банок для сбора мочи. Каждую банку подписывают, указывая фамилию и инициалы пациента, отделение, дату и время сбора мочи.

- 1-я банка – с 6 до 9 часов,
- 2-я – с 9 до 12 часов,
- 3-я – с 12 до 15 часов,
- 4-я – с 15 до 18 часов,
- 5-я – с 18 до 21 часа,
- 6-я – с 21 до 24 часов,
- 7-я – с 24 до 3 часов,
- 8-я – с 3 до 6 часов.

Собирают за сутки 8 порций мочи. В 6 часов утра больной опорожняет мочевой пузырь (эта порция выливается). Затем, начиная с 9 часов утра, точно каждые 3 часа собирают 8 порций мочи в отдельные банки (до 6 часов утра следующего дня). Все порции доставляют в лабораторию. Вместе с мочой доставляют сведения о количестве принятой за сутки жидкости.

3. Для определения количества форменных элементов в 1 мл мочи по **методу Нечипоренко** (выявление скрытого воспалительного процесса) собирается средняя порция первой утренней мочи – не более 15–20 мл.

4. **Двухстаканная проба** чаще используется в урологии у женщин. Мочу при мочеиспускании делят на две части. Важно, чтобы первая порция в этом случае была небольшой по объему. Посуду также готовят предварительно и указывают номер порции на каждом сосуде.

5. **Сбор суточной мочи.** Пациент собирает мочу в течение 24 часов, соблюдая обычный питьевой режим (1,5–2 л в сутки). Утром в 6–8 часов он опорожняет мочевой пузырь и отмечает время (эту порцию мочи выливают), а затем в течение суток собирают всю мочу в чистый широкогорлый сосуд емкостью не менее 2 л, с плотно закрывающейся крышкой. Последняя порция берется точно в то же время, когда накануне был начат сбор (время начала и конца сбора отмечают). Если не вся моча направляется в лабораторию, то количество суточной мочи измеряют мерным цилиндром, отливают часть в чистую посуду, в которой ее доставляют в лабораторию, и обязательно указывают объем суточной мочи.

6. **Порядок подготовки для проведения исследования на пробу Реберга (оценка секреторной и экскреторной функции почек):**

1. Утром помочиться в туалет.
2. Выпить 300–400 мл жидкости.
3. Через 10–15 минут помочиться в туалет.

4. Лечь в постель и через 60 и через 120 минут помочиться в отдельную посуду (2раза)

5. Измерить объем мочи.

6. В промежутке между опорожнением мочевого пузыря взять кровь для исследования на креатинин.

Доставить в лабораторию и провести исследование в тот же день.

7. **3-стаканная проба.** Используется для установления уровня гематурии и источника лейкоцитурии. Пробу проводят только в утренние часы без предварительного туалета наружных половых органов. Без перерывов в акте мочеиспускания больной собирает мочу в 2 сосуда, не опорожняя полностью мочевого пузыря. Затем после массажа простаты в 3-ий сосуд собирается 3-я порция мочи.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Основные задачи применения лабораторного обследования
2. Основные лабораторные методы исследования
3. Структура и оснащение современных лабораторий
4. Диагностическая специфичность теста
5. Диагностическая чувствительность теста
6. Основные принципы и методы взятия крови для биохимических исследований
7. Методы получения плазмы и сыворотки крови, виды антикоагулянтов
8. Основные принципы взятия мочи для лабораторных исследований: общий анализ мочи, проба Зимницкого, Нечипоренко, Реберга, сбор суточной мочи, двухстаканная проба.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Записать протокол практического занятия с указанием цели и задачи, методик взятия и подготовки биоматериала для исследований.

2. Записать способы взятия и подготовки мочи для общеклинических и биохимических исследований. Дать заключение с внесением в протокол.

3. Записать основные принципы взятия и подготовки крови для биохимических исследований.

4. Определить диагностическую чувствительность и специфичность тестов в клинических задачах.