

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

К работе в биохимической лаборатории допускаются лица не моложе 18 лет, прошедшие медицинский осмотр, инструктаж по охране труда и пожарной безопасности.

Обязанности при работе:

- Соблюдение правил внутреннего трудового распорядка;
- Соблюдение режимов труда и отдыха;
- Немедленное извещение заведующей отделением о ситуации, угрожающей жизни и здоровью;
- Выполнение требований нормативных документов, инструкций по охране труда, правил пожарной безопасности;
- Выполнение требований личной гигиены, содержание в чистоте рабочего места;

Необходимо руководствоваться принципом, что все пациенты потенциально инфицированы.

При работе в лаборатории необходимо использовать специальную одежду, сменную обувь, перчатки. После любой процедуры двукратно тщательно моют руки и дезинфицируют их.

Биоматериал транспортируют в штативах, поставленных в контейнеры.

Заполняют всю документацию на чистом столе.

Запрещено:

- Работать с неисправным оборудованием;
- Оставлять включенным в сеть приборы, за исключением некоторых, которые могут находиться в круглосуточном режиме работы;
- Есть в неположенном месте;
- Переливать кровь, сыворотку через край пробирки.

По окончании работы инструменты и перчатки поместить в контейнер для обеззараживания, поверхности столов обработать дезсредством, провести влажную уборку кабинета, кварцевание.

При возникновении аварийной ситуации поставить об этом в известность руководителя отделения и поступать в зависимости от ситуации.

Утилизация отходов происходит согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами: в лаборатории утилизируют отходы класса А (неопасные отходы, не контактировавшие с больными - белый пакет или другого цвета, кроме желтого и красного) и отходы класса Б (опасные отходы с возможным инфицированием - желтый пакет). Контейнеры для утилизации маркируются.

День 1

Знакомство с лабораторией и руководящими документами по организации деятельности лабораторных исследований:

Нормативные документы:

1. Приказ МЗ России № 380 от 25.12.1997 г. «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».
2. Приказ МЗ России № 45 от 07.02.2000 г. «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях Российской Федерации».
3. Приказ МЗ России № 220 от 26.05.2003 г. «Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов».

Основные должностные обязанности и функции работников:

Обязанности врача КДЛ:

- Проводит лабораторные исследования в соответствии с возложенными на него обязанностями (согласно мощности и профиля ЛПУ).
- Обеспечивает использование аналитически и диагностически надежных методов.
- Участвует в освоении и внедрении новых методов исследований и оборудования.
- Консультирует врачей других специальностей по вопросам лабораторной диагностики.
- Составляет рекомендации для персонала лечебных отделений ЛПУ по правилам взятия и доставки биологического материала в КДЛ.
- Контролирует работу специалистов со средним медицинским образованием.
- Участвует в интерпретации результатов лабораторных исследований.
- Осуществляет мероприятия по проведению внутрилабораторного и внешнего контроля качества исследований.
- Проводит анализ своей работы и работы подчиненных ему специалистов со средним медицинским образованием.
- Готовит ежемесячные отчеты о своей работе, участвует в составлении годового отчета лаборатории.
- Проводит занятия для специалистов со средним медицинским образованием с целью повышения их квалификации.
- Контролирует выполнение средним и младшим медицинским персоналом правил техники безопасности и санэпидрежима.
- Повышает свою квалификацию в установленном порядке.

Обязанности медицинского технолога и техника:

- Выполняет лабораторные исследования по разделу, определяемому заведующим лабораторией в соответствии с квалификационными требованиями и установленными нормами нагрузки.
- Подготавливает для работы реактивы, химическую посуду, аппаратуру, дезинфицирующие растворы.
- Регистрирует поступающий в лабораторию биологический материал для исследования, в том числе с использованием персонального компьютера, проводит обработку и подготовку материала к исследованию.
- Проводит взятие крови из пальца.
- При работе с приборами соблюдает правила эксплуатации, согласно нормативно-технической документации.
- Осваивает новое оборудование и новые методики исследований.
- Проводит контроль качества выполняемых исследований и обеспечивает мероприятия по повышению точности и надежности анализов.
- Проводит стерилизацию лабораторного инструментария в соответствии с действующими инструкциями.
- Ведет необходимую документацию (регистрация, записи в журналах, бланках результатов анализа, заявки на реактивы, учет своей работы, составление отчета и т.д.).
- Выполняет поручения заведующего КДЛ по материально-техническому обеспечению лаборатории.
- Повышает профессиональную квалификацию в установленном порядке, участвует в занятиях для сотрудников со средним медицинским образованием.
- Соблюдает правила техники безопасности и производственной санитарии, согласно требованиям санэпидрежима.

Состав помещений КДЛ

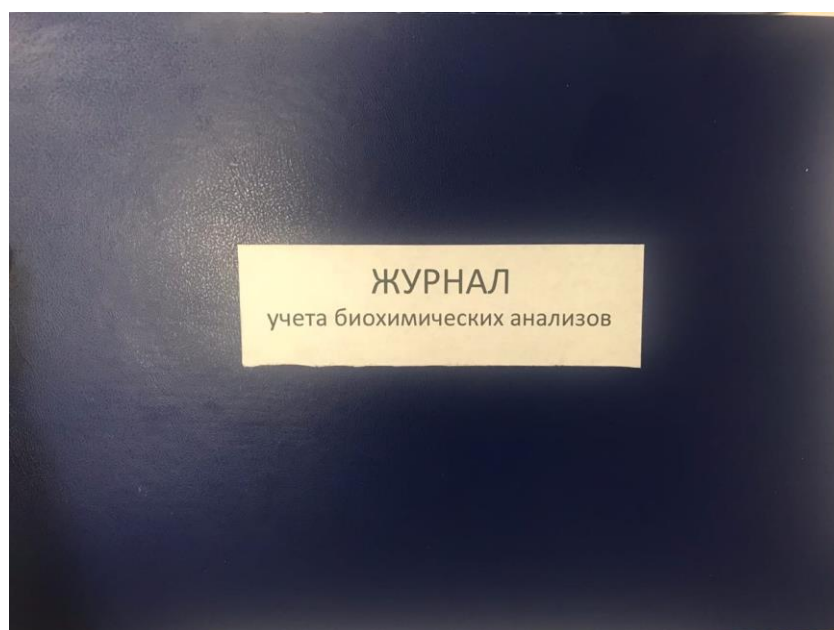
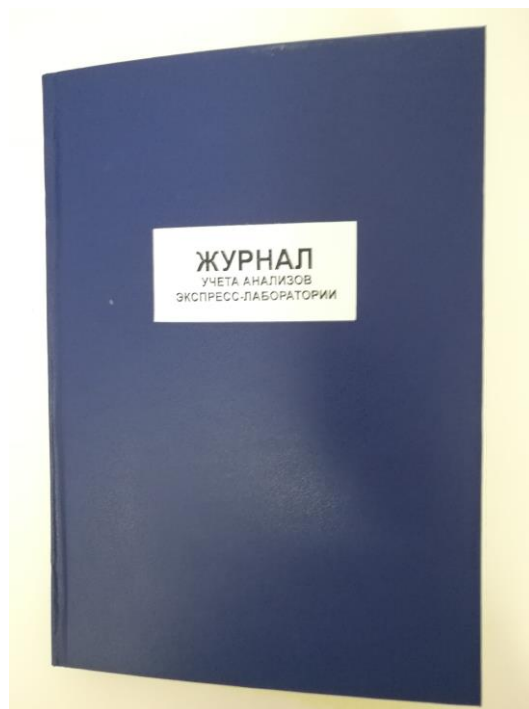
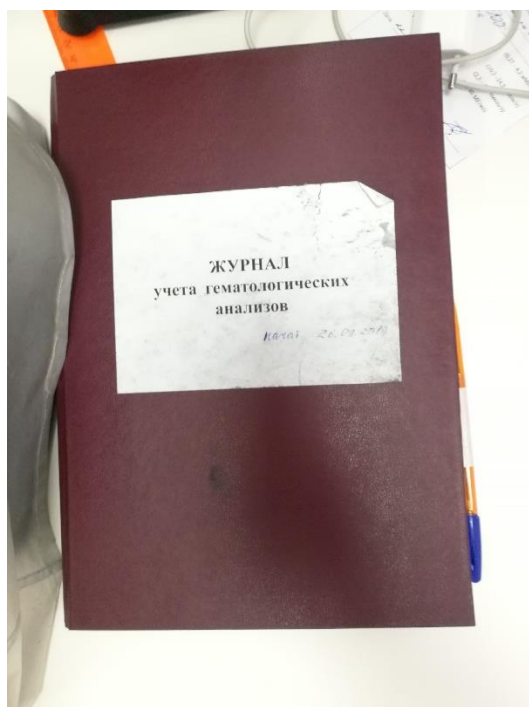
Вид помещения (зоны)	Назначение	Оснащение
Диспетчерская	Прием и регистрация биоматериала	ПК
Центрифужная	Центрифугирование вакутейнеров	Центрифуги
Экспресс-лаборатория	Проведение исследований показателей КОС, АСТ, уровня глюкозы, регистрация результатов	Анализаторы глюкозы автоматические Энзискан Ультра и Glukometer pro, анализатор газов крови ABL800 FLEX, коагулометр Hemochron Response, ПК

Биохимическая лаборатория	Проведение биохимических исследований	Автоматический биохимический анализатор CA-400 (FURUNO), 2 шт. ПК
Гематологическая лаборатория	Проведение гематологических исследований	Коагулометры автоматические, анализатор СОЭ автоматический, микроскоп, ПК
Отдел гемостаза и иммуноизологии	Проведение исследований показателей гемостаза	Автоматический анализатор системы гемостаза ACL TOP 500 CTS, автоматический коагулометр ACL 9000, агрегометр Chrono-log. ПК
Общеклиническая лаборатория	Проведение ОАМ	Анализатор мочи, центрифуга, микроскоп. ПК
Окраска мазков	Фиксация и окрашивание мазков	Контейнеры с фиксатором и красителем
Бактериологический отдел	Проведение бактериологических исследований	ПК, термостат
Чистая моечная	Дезинфекция инструментария, посуды	Дистиллятор
Грязная моечная		Контейнеры для дезинфекции
Помещение для временного хранения отходов	Временное хранение отходов	Контейнеры утилизации отходов класса А и Б
Комната уборочного инвентаря	Хранение уборочного инвентаря	Уборочный инвентарь

Перечень рабочих журналов КДЛ

Название рабочего журнала	Назначение
Журнал регистрации биоматериала	Регистрация поступающего биоматериала
Журнал регистрации биохимических показателей	Регистрация результатов биохимических исследований
Журнал регистрации анализов экспресс-лаборатории	Регистрация анализов экспресс-лаборатории
Журнал регистрации гематологических исследований	Регистрация результатов гематологических исследований
Журнал регистрации исследований гемостаза	Регистрация результатов исследований гемостаза

Журнал регистрации исследований мочи	Регистрация исследований мочи
Журнал контроля работы стерилизаторов воздушного, парового	Контроль работы стерилизаторов воздушного, парового
Журнал регистрации и контроля работы бактерицидной установки	Регистрация и контроль работы бактерицидной установки



День 2-3

Прием и регистрация биоматериала

Проводят регистрацию биохимических, гематологических исследований, исследований гемостаза в МИС Cordis. Штрих-кода пропечатывают и маркируют ими вакутейнеры с кровью.

Также данные о поступившем биоматериале (дата, время, № п/п, ФИО пациента, отделение, № пробы, № ИБ, вид исследования – «биохимия», «гематология», «гемостаз», «гормоны», примечание) регистрируются в журнале учета анализов.



День 4-5

Подготовка биоматериала к исследованиям: центрифугирование биоматериала

Режимы центрифугирования приведены в таблице:

№ программы	Количество оборотов	Время, мин.	T, °C	Назначение исследований
1	3000	15	21	Биохимические
2	3750	5	21	Группы крови
3	3400	15	21	Коагулограмма
4	1000	5	21	Агрегация тромбоцитов

Инструкция по эксплуатации центрифуги Allegra X-12 (Beckman Coulter) по программе:

1. Перевести переключатель питания в положение (Питание включено). На экране высвечивается Allegra X-12 (Beckman Coulter)
2. Нажать клавишу (Программа) и выбрать номер требующейся программы центрифугирования. Затем нажать клавишу ENTER/SAVE (Ввод/Сохранение параметров).

3. Убедиться, что все параметры введены правильно, а крышка центрифуги закрыта. Нажать клавишу ENTER/SAVE (Ввод/Сохранение параметров), а затем клавишу START (Старт).
4. Дождаться окончания центрифугирования. После остановки ротора, сопровождающейся звуковым сигналом, нажать клавишу DOOR (Крышка), чтобы разблокировать крышку прибора. Открыть крышку.
5. После окончания работы крышку центрифуги оставлять только в открытом положении
6. Мутные, липемичные и гемолизированные пробы могут явиться причиной неправильных результатов. Пробы стабильны в течение 2-х часов при 22-24°C.



Центрифуга Allegra X-12

День 6

Работа с дневником

День 7-8

Забор капиллярной крови

Процедура взятия капиллярной крови

- Идентифицировать пациента;
- Проверить направления;
- Обеспечить пациенту удобное для взятия крови положение и проверить теплые ли руки у пациента;
- Надеть перчатки;
- Подготовить необходимые средства для работы;
- Выбрать место пункции;
- Очистить место предполагаемой пункции дезинфицирующим средством и дать коже высохнуть;

- Фиксировать руку пациента и палец; сдавить мягкую часть дистальной фаланги до возникновения легкого отека (конец пальца приобретает темно-красную окраску);
- Произвести прокол кожи немного латеральнее от центральной оси пальца; утилизировать скарификатор;
- Первая капля крови удаляется сухой очищающей салфеткой;
- Полностью заполнить капилляр кровью;
- На место прокола следует поместить ватный тампон, смоченный дезинфицирующим раствором и сдавить на 3-5 минут;
- Поместить капилляр в микропробирку;
- Маркировать пробирки;
- Все используемые во взятие крови необходимые средства собрать в специальный контейнер.



Определение уровня глюкозы в капиллярной крови с помощью «Энзискан Ультра»

Принцип работы:

В реакционной камере измерительной ячейки расположен амперометрический датчик, на поверхность которого установлена ферментная глюкозооксидазная мембрана. При введении исследуемой пробы в измерительную ячейку в ферментной мембране происходит ферментативное окисление глюкозы с образованием перекиси водорода и глюконовой кислоты. В результате распада H_2O_2 на электроде датчика появляется ток. По величине и силе тока можно судить о концентрации глюкозы в пробе.

Кнопка «Пуск» дозатора при ее нажатии имеет два положения. Первое положение – нажатие кнопки до первого уровня – забор пробы, второе положение – полное нажатие кнопки до упора – впрыск пробы в измерительную ячейку.

Результат измерения отображается на дисплее и фиксируется в «Блоке памяти» анализатора, после чего автоматически включается режим «Промывка».

Калибровка анализатора проводится раствором глюкозы 10 ммоль/л раз в 4 часа.

Измерение глюкозы в крови:

- В случае необходимости провести повторную калибровку анализатора;
- На панели управления выбрать режим «Кровь»;
- Набрать дозатором пробу и ввести ее в канал «Ввод пробы»;
- Через 10 сек. на дисплее появится результат и автоматически включится промывка;
- При появлении сигнала «Введите пробу» можно проводить измерение следующего образца;

Нормальные значения концентрации глюкозы при измерении на анализаторе «Энзискан ультра»:

Категория	Концентрация глюкозы, ммоль/л
Новорожденные дети (1 день)	2,22-3,33
Дети (1 месяц)	2,7-4,44
Дети старше 5-6 лет	3,33-5,55
Взрослые до 60 лет	4,44-6,38
Взрослые старше 60 лет	4,61-6,10



Регистрация результатов исследования уровня глюкозы в крови

Результаты записывают на бланке направления на анализ, регистрируют в журнале регистрации анализов экспресс-лаборатории, отмечая дату и время исследования, № п/п, ФИО пациента, отделение, № ИБ, значение уровня глюкозы.

Также регистрируют результаты в МИС «Cordis» в протоколе «Гликемический профиль» или на вкладке «Глюкоза капиллярной крови».

День 9-10

Определение активированного времени свертывания крови при помощи экспресс анализатора Actalyke MINI II

Данный анализ позволяет оценить время свертывания цельной крови при гепаринизации.

Активированное время свёртывания обычно измеряют перед вмешательствами, требующими экстракорпорального кровообращения, например операциями с использованием аппаратов искусственного кровообращения, ультрафильтрацией, гемодиализом, экстракорпоральной мембранной оксигенацией (ЭКМО), а также перед инвазивными процедурами, например катетеризацией сердца при использовании гепарина.

1. В специальную пробирку с магнитом вносят 400 мкл цельной крови
2. Пробирку вставляют в автоматический таймер свёртывания
3. Таймер активируют и ждут появления звукового сигнала окончания исследования

Референтные значения:

- В норме активированное время свёртывания составляет 107 ± 13 с.
- При искусственном кровообращении дозу гепарина подбирают так, чтобы довести активированное время свёртывания до 400-600 с.
- При ЭКМО активированное время свёртывания доводят до 220-260 с.
- Результат регистрируют в журнале регистрации анализов экспресс-лаборатории: записывают дату, № п/п, ФИО, отделение, № пробы, значение АСТ.



Actalyke MINI II

Особенности преаналитического этапа исследования показателей КОС

Необходимо, чтобы состояние пациента оставалось стабильным минимум 20 мин, а параметры дыхания оставались неизменными в течение хотя бы 5 минут до взятия крови, иначе показатели КОС могут быть искаженными.

Несмотря на то, что параметры КОС можно определять в артериальной, венозной и капиллярной крови, для анализа рекомендовано брать артериальную кровь из-за большей стабильности газового состава и метаболических параметров.

Исследуемый образец не должен содержать воздуха.

Общее время выдачи результатов анализа КОС не должно превышать 15 мин.

Исследование показателей КОС

Для определения показателей кислотно-основного состояния в экспресс-лаборатории проводят исследование венозной/ артериальной крови с помощью анализатора газов крови ABL 800.

Необходимо нажать кнопку «Запуск». Открыть порт, вставить шприц с кровью. Ввести № пробы, фамилию пациента, пол, температуру тела. После измерения анализатор издает звуковой сигнал, шприц с кровью можно извлечь из анализатора. Далее распечатывается бланк с результатами измерения показателей КОС.



ABL 800

Регистрация исследований показателей КОС

В журнал учета анализов экспресс-лаборатории записывают дату, № п/п, ФИО пациента, отделение, № пробы в графе «КЩР вена»/«КЩР артерия». Распечатанный бланк анализа направляют в отделение реанимации.

День 11

Исследования гемостаза.

Для исследования системы гемостаза в биохимических исследованиях используют плазму, получаемую из венозной крови. Подготовка обследуемых:

- Забор крови делают утром с 8 до 10 часов и натощак, из локтевой вены.
- Исключить физическое перенапряжение и эмоциональное возбуждение (дать обследуемому 15 минут отдохнуть).
- Исключить курение и прием алкоголя непосредственно перед обследованием.
- Первые 5-6 капель выпускают на ватный тампон, т.к. они могут содержать тканевой тромбопластин.
- До центрифугирования пробирки ставят в ледяную баню (кроме исследования функции тромбоцитов).
- Интервал времени между забором крови и исследованием существенно сказывается на многих параметрах коагулограммы (2 часа), поэтому в результатах анализа указывают время забора крови и начала исследования.
- Пробирки лучше использовать пластиковые одноразовые.
- Если гематокритный показатель близок к нормальному (40 - 45 %), то соотношение крови и антикоагулянта должно составлять 9 : 1.
- Взятие крови целесообразно проводить не в одну пробирку, а дробно – в несколько пробирок с соответствующей расфасовкой антикоагулянта – стабилизатора.
- В качестве антикоагулянта используют 3,8 % раствор цитрата натрия, т.к. в цитратной плазме лучше сохраняются лабильные факторы свертывания крови и тромбоциты.
- Плазму рекомендуется хранить при комнатной температуре, если ее используют для определения ПТВ, активности ф.VII или исследования функции тромбоцитов, для проведения всех прочих тестов плазму хранят при 2-8 С
- Ацетилсалициловая кислота, нестероидные противовоспалительные средства, пенициллин, стрептокиназа, урокиназа увеличивают время кровотечения.

Определение показателей гемостаза

Метод определения: оптический клоттинговый

Клоттинговые (от англ. *clot* – *сгусток*) методы основаны на измерении промежутка времени с момента внесения реагента, запускающего ферментативный процесс свертывания плазмы (каскад реакций), до момента коагуляции – образования фибринового сгустка (нитей фибрина).

При скрининговых исследованиях системы гемостаза применяются клоттинговые методы – протромбиновый тест (ПВ – протромбиновое время, с; МНО - международное нормализованное отношение), концентрация фибриногена (по Клаусу, г/л), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ, с). Для измерения времени образования сгустка в клоттинговых

тестах используют автоматические коагулометры (анализаторы показателей гемостаза), исследования основаны на оптическом принципе регистрации момента выпадения сгустка.

Определение протромбинового времени

Тромбопластин (из головного мозга кролика) (Ренампластин) предназначен для определения протромбинового времени (ПВ) в плазме венозной крови и расчета протромбинового отношения (ПО), протромбинового индекса (ПИ) и Международного Нормализованного Отношения (МНО), а также для определения протромбина по Квику в % от нормы.

Определение протромбинового времени - это высокочувствительный скрининговый тест, который выявляет нарушения факторов внешнего пути свертывания крови (ф. II, V, VII и X)

Принцип: клоттинговый. При добавлении к цитратной плазме избытка тканевого тромбопластина и ионов кальция время образования сгустка фибрина зависит только от активности факторов внешнего и общего пути коагуляции: I, II, V, VII, X. Определяется время от момента добавления к исследуемой плазме Ренампластина до момента образования сгустка фибрина.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

Условия хранения биоматериала: Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 8 ч при комнатной температуре. Не допускается хранение образцов при температуре 2-8 С в связи с возможностью холодовой активации фактора VII.

При работе с кровью общим правилом является немедленное отделение плазмы от форменных элементов, так как некоторые вещества могут поглощаться и инактивироваться эритроцитами и лейкоцитами.

Нормальные значения:

Показатель	Значение
ПВ, сек	15-20
МНО	0,85-1,15

Интерпретация результатов:

Удлинение ПВ может быть связано с:

- дефицитом факторов внешнего пути свертывания (II, V, VII, X);
- дефицитом витамина К;
- приемом антикоагулянтов непрямого действия (например, варфарина и др.);
- ДВС-синдромом (фаза гипокоагуляции);
- афибриногенемией, гипофибриногенемией, дисфибриногенемией;
- заболеванием печени
- антикоагулянтами прямого действия (гепарин);
- злокачественными опухолями.

Укорочение ПВ свидетельствует об:

- активации внешнего пути свертывания и гиперкоагуляции;
- повышении активности факторов внешнего пути свертывания;
- ДВС-синдроме;
- активации системы фибринолиза.

Регистрация результатов исследования

Печатаем результаты анализа, регистрируем их в журнале регистрации показателей гемостаза (указываем дату, № п/п, отделение, ФИО пациента, № пробы, ИД пациента, значение ПВ, МНО).



Автоматический коагулометр ACL TOP 500

День 12

Работа с дневником

День 13

Определение АЧТВ

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) является одним из наиболее распространенных и чувствительных тестов для выявления широкого диапазона коагуляционных нарушений. АЧТВ изменяется в зависимости от различных количеств фибриногена, активности протромбина, факторов V, VIII, IX, X, XI, XII, факторов контакта, присутствия специфических ингибиторов факторов свертывания VIII и IX. АЧТВ является широко применяемым методом мониторинга эффективности парентерального введения гепарина. При этом время свертывания увеличивается пропорционально уровню гепарина. У пациентов, принимающих пероральные антикоагулянты, снижаются уровни циркуляции факторов II, VII, IX и X, поэтому АЧТВ может увеличиваться. В присутствии неспецифических

ингибиторов, например волчаночного антикоагулянта, АЧТВ может удлиняться.

Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ-тест) предназначен для работы на всех типах полуавтоматических и автоматических коагулометров.

Значения, соответствующие нормальным: Нормальный диапазон значений АЧТВ, полученный при определении АЧТВ у не менее 100 здоровых доноров, составляет в среднем 25 -35 сек и указан в паспорте для каждой серии набора.

Плазму крови после получения или анализируют сразу, или помещают во флаконы с плотно закрывающимися крышками и замораживают при температуре не выше -20°C.

Условия хранения плазмы: Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 ч при комнатной температуре и не более 8 ч при температуре 2-8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -18-20°C и хранение при этой температуре не более 2 мес.

Для исследований необходимо использовать плазму крови, лишенную тромбоцитов, полученную двойным центрифугированием.

После первого центрифугирования плазму перенести в другую пробирку и повторно центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин. Немедленно после центрифугирования перенести верхний слой плазмы (не более половины объема) в пластиковую пробирку.

Определение содержания фибриногена

Определение содержания фибриногена в плазме крови является одним из основных тестов при исследовании гемостаза. Тест предназначен для измерения содержания фибриногена в плазме при гиперфибриногенемии, которая связана с тяжестью воспалительных, иммунных, деструктивных процессов, а также является одним из факторов повышенного риска развития гипервискозного синдрома, артериальных тромбозов и инфарктов органов, а также при остром ДВС-синдроме, при лечении фибринолитиками, при врожденных гипо- и дисфибриногенемиях.

Набор реагентов для определения содержания фибриногена (Фибриноген-тест) предназначен для работы на всех типах полуавтоматических и автоматических коагулометров.

Принцип метода. Измеряется время свертывания разбавленной в 10 раз цитратной плазмы крови при добавлении избытка тромбина. В этой системе время образования сгустка фибрина зависит только от концентрации в плазме фибриногена, определяемой по калибровочному графику разведений плазмы-калибратора с установленным содержанием фибриногена.

Нормальный диапазон значений фибриногена, полученный при определении у не менее 100 здоровых доноров, составляет в 2,0 – 4,0 г/л.

Интерпретация результатов: Снижение концентрации фибриногена наблюдается при врожденном дефиците фибриногена (афибриногенемия, гипофибриногенемия, дисфибриногенемия), при ДВС-синдроме, тяжелых

поражениях печени, острых фибринолитических состояниях, злокачественных опухолях и при лечении фибринолитиками.

Повышение концентрации фибриногена наблюдается при гиперфибриногенемии, инфекционных заболеваниях, при тромбозах и тромбоэмболиях, в том числе у больных инфарктом миокарда, ишемическим инсультом, в последние месяцы беременности, после хирургических операций, при воспалительных процессах, при заболеваниях почек.

Регистрация результатов исследования

Печатаем результаты анализа, регистрируем их в журнале регистрации показателей гемостаза (указываем дату, № п/п, отделение, ФИО пациента, № пробы, ИД пациента, значение АЧТВ, фибриноген).

Все эти исследования также проводятся на автоматическом коагулометре ACL TOP 500.

День 14

Требования преаналитического этапа биохимического исследования

Подготовка обследуемых:

- Забор крови делают утром с 8 до 10 часов утра. В экстренных случаях взятие крови осуществляется в любое время дня.
- Кровь берут натощак, после 8-12-часового голодания.
- Воздержание от приема алкогольных напитков не менее 24 часов.
- Исключается физическое напряжение.
- Получение и хранение биологического материала:
 - Для исследований используют чистую сухую посуду без следов моющих средств.
 - Желтушные, гемолизированные, хилезные сыворотка или плазма не пригодны для исследования.
 - Для получения плазмы венозную кровь собирают в чистую, сухую пробирку с антикоагулянтом. Соли ЭДТА, гепарин, гепаринат лития, оксалат натрия, цитраты снижают результаты. Центрифугирование проводят в обычном режиме не позднее 5 часов от забора материала.
 - Для получения сыворотки крови венозную кровь собирают в чистую, сухую пробирку. Центрифугирование проводят в обычном режиме не позднее 5 часов от забора материала.
 - Для исследования мочи используют утреннюю порцию. В экстренных случаях можно исследовать любую порцию мочи. Исследование проводят не позднее, чем через 2 часа после взятия пробы.

Условия хранения биологического материала:

- Биологический материал хранят в хорошо закрытых контейнерах.
- Цельная кровь не пригодна для хранения, даже в присутствии консервантов.

— Плазму и сыворотку можно хранить 1 день при комнатной температуре, 7 дней при 4-8°C, от 3 до 6 месяцев при -20°C. В закрытых сосудах белок стабилен в моче 2 дня при комнатной температуре, до 17 дней в холодильнике (4-8°C).

Вакутейнеры с исследуемыми пробами помещают в анализатор СА 400 Furuno, устанавливают необходимые исследования, выполняют запуск.

Автоматический анализатор СА 400 Furuno предназначен для проведения биохимических исследований. Принцип измерения: конечная точка, кинетика, по двум точкам.



Capillarys-2 Flex Piercing является многофункциональной системой и выполняет широкий перечень классических электрофорезных тестов.

Регистрация биоматериала

Проводят регистрацию биохимических исследований – на вкладке «Регистрация анализа» в ЛИС Cordis устанавливают необходимые биохимические тесты согласно направлению пациента.

Записывают данные в журнал учета биохимических исследований, указывая дату, время, № п/п, отделение, ФИО пациента, № пробы, № ИБ.

День 15

Определение содержания показателей углеводного обмена

Определение концентрации глюкозы в сыворотке

В основном, концентрация глюкозы в сыворотке или плазме измеряется для диагностики и наблюдения за ходом лечения диабета. Другие применения – определение неонатальной гипогликемии, исключение панкреатической очаговой карциномы, оценка углеводного метаболизма при различных заболеваниях.

Метод – ферментативный фотометрический тест с использованием глюкозооксидазы.

Нормальные величины

	мг/дл	ммоль/л
Дети (натощак)		
1-6 лет	74-127	4,1-7,0
7-19 лет	70-106	3,9-5,9
Взрослые (натощак)		
Венозная кровь	70-115	3,9-6,4

Определение гликированного гемоглобина

Клинико-диагностическое значение определения HbA1c в сыворотке:

Гемоглобин A1c (HbA1c) – это гликозилированный гемоглобин, образующийся в результате неферментативной реакции между глюкозой и исходным гемоглобином. Этот процесс продолжается в течение всей циркуляции эритроцита в крови (100-120 суток), степень гликозилирования прямо пропорциональна концентрации глюкозы в крови. Уровень HbA1c отражает средний уровень глюкозы в крови за предшествующие 6-8 недель. Показатель может служить для долгопериодного ретроспективного мониторинга концентрации глюкозы при сахарном диабете. Снижение уровня HbA1c может предотвратить или отсрочить наступление поздних осложнений диабета. Так как количество HbA1c зависит от общего количества Hb, измеренное значение HbA1c указывается в % от концентрации общего Hb.

Ошибочно низкие значения (низкий HbA1c при высоком уровне глюкозы) могут наблюдаться при гемолитических заболеваниях или при значительной недавней потере крови. Ошибочно высокие значения (высокий HbA1c при нормальном уровне глюкозы) обнаруживались при ЖДА.

Метод: иммунотурбодиметрический тест по конечной точке с сенсibilизацией частицами и непосредственным определением HbA1c без измерения общего Hb.

Исследуемые образцы - цельная кровь с добавлением ЭДТА.

Подготовка образцов: Для подготовки проб требуется гемолизирующий раствор DiaSys oneHbA1c

Гемолизирующий раствор	1000 мкл
Проба/Калибратор/Контроль	20 мкл

Перемешать пробу с гемолизирующим раствором и ждать 5 минут или до полного гемолиза.

Предлагаемая клиническая норма HbA1c:

	% NGSP	ммоль/моль
Здоровые	4 - 6	20-42
Направленная терапия	< 7	< 53
Изменение терапии	> 8	> 64

Регистрация результатов исследования

Полученные результаты регистрируют в журнале учета биохимических исследований. Распечатывают бланки результатов, направляют их в отделения.

День 16

Определение активности панкреатической амилазы в сыворотке

Амилазы – гидролитические ферменты, разлагающие крахмал до мальтозы. Панкреатическая амилаза вырабатывается поджелудочной железой и высвобождается в кишечный тракт. Измерение панкреатической амилазы в сыворотке используется для диагностики нарушений работы поджелудочной железы и для обнаружения развития осложнений. При острых панкреатитах активность амилазы крови повышается в течение нескольких часов после начала болей в животе, примерно через 12 ч. достигает пика и возвращается к нормальным значениям через 5 дней. Несмотря на то, что панкреатическая амилаза более специфична для заболеваний поджелудочной железы, чем общая амилаза, для подтверждения острого панкреатита рекомендуется дополнительно измерять активность липазы.

Метод: ферментативный фотометрический тест, в котором субстрат 4,6-этилиден-(G7)-п-нитрофенил-(G1)- α -D-мальтогептазид (EPS-G7) расщепляется α -амилазами на различные фрагменты. Далее они, в свою очередь, расщепляются α -глюкозидазой с образованием глюкозы и п-нитрофенола. Поскольку изофермент слюны селективно ингибируется во время фазы преинкубации комбинацией двух моноклональных Ат, увеличение оптической плотности представляет панкреатическую амилазную активность образца.

Референсные значения:

	Мужчины	Женщины
Сыворотка/плазма, Ед/л	<53	<53
Моча, Ед/л	<319	<356

День 17

Определение активности АЛТ и АСТ

Аланинаминотрансфераза (АЛТ/АЛАТ) и аспартатаминотрансфераза – важные представители аминотрансфераз (группы ферментов, катализирующих превращение α -кетокислот в аминокислоты путем переноса аминокрупп).

Значительное повышение АЛТ происходит только при болезнях печени, т. к. это специфичный фермент. Однако, повышение уровня АСТ может происходить в связи с повреждением сердечной или скелетных мышц, также как и при повреждении паренхимы печени. Соотношение АСТ к АЛТ используется для дифференциации повреждения печени от повреждения сердечной или скелетных мышц. Соотношение < 1 указывает на слабое

повреждение печени, > 1 говорит о множественных, часто хронических заболеваниях печени.

Метод: оптимизированный УФ тест

Исследуемые образцы – сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА плазма

Нормальные величины активности:

— АЛТ: женщины <31 Е/л, мужчины <41 Е/л

— АСТ: женщины <31 Е/л, мужчины <35 Е/л

День 18

Работа с дневником

День 19

Определение активности ЛДГ кинетическим методом в сыворотке

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – это фермент, состоящий из пяти различных изоферментов, катализирующих превращение L-лактата в пируват и наоборот. ЛДГ присутствует в цитоплазме всех тканей человека, в высоких концентрациях в печени, сердечной и скелетных мышцах, в меньших концентрациях в эритроцитах, поджелудочной железе, почках и желудке.

Увеличение активности ЛДГ обнаруживается при различных патологических состояниях, таких как инфаркт миокарда, рак, болезни печени, крови или мышц. Однако, для дифференциальной диагностики, из-за отсутствия органоспецифичности ЛДГ, необходимо определение её изоферментов, либо других ферментов, таких как щелочная фосфатаза или АЛТ/АСТ.

Метод: Оптимизированный УФ тест

Исследуемые образцы – сыворотка; гепаринизированная или ЭДТА - плазма.

Нормальные величины

	25°C	30°C	37°C
Взрослые, Е/л	<240	<346	<480

День 20

Определение содержания общего белка в сыворотке и плазме

Измерение общего белка является полезным при широком круге заболеваний. Снижение концентрации общего белка наблюдается при нарушениях синтеза белка в печени, потерях белка при повреждениях почек, расстройствах кишечника или недостатке питания. Повышенный уровень белка имеет место при хронических воспалениях, циррозе печени и обезвоживании.

Метод: Фотометрический тест в соответствии с биуретовым методом.

Исследуемые образцы - сыворотка или плазма.

Нормальные величины

		г/дл	
Взрослые		6,6 – 8,8	
Дети		Девочки	Мальчики
	1–30 дней	4,2 – 6,2	4,1 – 6,3
	1–6 месяцев	4,4 – 6,6	4,7 – 6,7
	6 месяцев–1 год	5,6 – 7,9	5,5 – 7,0
	1–18 лет	5,7 – 8,0	5,7 – 8,0

Определение содержания альбумина в сыворотке

Альбумин – основной регулятор осмотического давления плазмы. Также является связывающим и транспортным белком компонентов крови. Измерение альбумина в сыворотке используется для диагностики и мониторинга заболеваний печени. Кроме того, уровень альбумина является индивидуальным индикатором состояния здоровья и питания.

Метод: фотометрический тест с бромкрезоловым зеленым.

Исследуемые образцы – сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА плазма

Нормальные величины (у взрослых) – 3,5-5,2 г/дл

Определение содержания общего и прямого билирубина в сыворотке

Билирубин – это продукт распада гемоглобина. Свободный, неконъюгированный билирубин неполярен и почти нерастворим в воде, поэтому при транспортировании в крови от селезенки к печени он образует комплекс с альбумином. В печени билирубин конъюгирует с глюкуроновой кислотой и образующийся комплекс билирубин–глюкуроновая кислота экскретируется в желчные протоки.

Гипербилирубинемия может быть вызвана увеличенным образованием билирубина из-за гемолиза (прегепатитная желтуха), повреждения паренхимы печени (интрагепатитная желтуха) или закупорки желчных протоков (постгепатитная желтуха). Наиболее часто встречается хроническая врожденная форма гипербилирубинемии с преобладающим неконъюгированным билирубином (синдром Гилберта). Высокие уровни билирубина наблюдаются у 60–70% новорожденных благодаря увеличенному послеродовому разрушению эритроцитов и отставании функции ферментов деградации билирубина. общепринятые методы анализа билирубина определяют либо общий, либо прямой билирубин. Анализ прямого билирубина определяет в основном конъюгированный, растворимый в воде билирубин. Следовательно, неконъюгированный билирубин может быть оценен как разница между общим и прямым билирубином.

Метод: Фотометрический тест с 2,4-дихлоранилином (ДХА).

Исследуемые образцы – сыворотка, гепаринизированная плазма. Важно избегать попадания света на образцы.

Нормальные величины содержания общего билирубина

Новорожденные	мг/дл	мкмоль/л
4 ч	<8.8	<150
2 ^й день	1.3–11.3	22–193
3 ^й день	0.7–12.7	12–217
4–6 ^й день	0.1–12.6	1.7–216
Дети	0.2–1.0	3.4–17
Взрослые	0.1–1.2	1.7–21

Нормальные величины содержания прямого билирубина

Дети и взрослые, мг/дл (мкмоль/л) ≤ 0.2 (≤ 3.4)

День 21

Определение содержания мочевины в сыворотке

Мочевина – это азотосодержащий конечный продукт катаболизма белка. Считается, что с повышенным уровнем содержания мочевины в крови связаны состояния гиперуремии и азотемии. Параллельное определение мочевины и креатинина в крови проводится для того, чтобы различить преренальную и постренальную азотемии. Преренальная азотемия, вызванная, например, обезвоживанием, повышенным катаболизмом белка, лечением кортизолом или пониженной ренальной перфузией, приводит к повышению уровня мочевины в крови, в то время как значения креатинина остаются в пределах нормы. В случае постренальных азотемий, вызванных обструкцией уринарного тракта, повышается как уровень мочевины, так и креатинина, но креатинина – в меньшей степени. В случае болезней почек концентрация мочевины повышается при заметном снижении скорости гломерулярной фильтрации и при поглощении белка свыше 200 г в день.

Метод: “Уреазный – глутаматдегидрогеназный”: ферментативный УФ тест.

Исследуемые образцы – сыворотка, плазма (без гепарината аммония), свежая моча

Нормальные величины:

В сыворотке/плазме		
Взрослые	мг/дл	ммоль/л
Общие пределы	17 – 43	2,8 – 7,2
Женщины <50 лет	25 – 40	2,6 – 6,7
Женщины >50 лет	21 – 43	3,5 – 7,2
Мужчины <50 лет	19 – 44	3,2 – 7,3
Мужчины >50 лет	18 – 55	3,0 – 9,2

Дети		
1 – 3 года	11 – 36	1,8 – 6,0
4 – 13 лет	15 – 36	2,5 – 6,0
14 – 19 лет	18 – 45	2,9 – 7,5

Определение содержания креатинина в сыворотке

Креатинин – продукт обмена веществ, выделяемый почками, главным образом, путем гломерулярной фильтрации. У здоровых людей концентрация креатинина в плазме крови практически постоянна и не зависит от потребления воды, физической нагрузки и скорости выделения мочи. Таким образом, повышенные значения креатинина в плазме всегда указывают на пониженное выделение, т.е. на нарушение функции почек. Клиренс креатинина позволяет оценить скорость гломерулярной фильтрации, что позволяет лучше распознавать почечные заболевания и наблюдать за работой почек. С этой целью креатинин измеряется одновременно в сыворотке и моче, собранной за определённый период времени.

Метод - кинетический тест без депротеинизации, в соответствии с методом Яффе.

Принцип определения: В щелочном растворе пикрата креатинин образует красно-оранжевый окрашенный комплекс. Изменение окраски за фиксированное время пропорционально концентрации креатинина в образце.

Креатинин + Пикриновая кислота → Креатинин пикратный комплекс

Исследуемые образцы – сыворотка, гепаринизированная плазма, моча.

Нормальные величины

В сыворотке/плазме без компенсации:		
Взрослые	мг/дл	мкмоль/л
Женщины	0,6 – 1,1	53 – 97
Мужчины	0,9 – 1,3	80 – 115
Дети		
Новорожденные	0,5 – 1,2	45 – 105
Младенцы	0,4 – 0,7	35 – 62
Дети	0,5 – 1,2	45 – 105
Мужчины 98–156 мл/мин/1.73 м ²		

День 22

Содержания показателей липидного обмена

Определение содержания холестерина

Холестерин – это компонент клеточных мембран, а также предшественник стероидных гормонов и желчных кислот, синтезируемый клетками и получаемый с пищей. Холестерин транспортируется в крови с помощью липопротеинов, а именно – комплексов липидов и аполипипропротеинов. Существует 4 класса липопротеинов: липопротеины

высокой плотности (ЛПВП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП) и хиломикроны. ЛПНП принимают участие в транспорте холестерина к периферийным клеткам, тогда как ЛПВП отвечают за извлечение холестерина из клеток. 4 разных класса липопротеинов проявляют явно выраженную взаимосвязь с коронарным атеросклерозом. ЛПНП-холестерин вносит вклад в формирование атеросклеротических бляшек внутри интимы артерии и неотделим от ишемической болезни сердца (ИБС) и связанной с ней смертности. Повышенная концентрация ЛПНП-холестерина указывает на высокий риск даже в том случае, когда общий холестерин находится в пределах нормы. ЛПВП-холестерин обладает защитным действием, препятствующим формированию бляшек и развитию ИБС. На самом деле низкие значения ЛПВП-холестерина представляют собой независимый фактор риска. Определение лишь уровня общего холестерина используется в целях скрининга, тогда как для более точной оценки риска необходимо кроме этого измерять ЛПВП и ЛПНП холестерин.

Клинические испытания с использованием диет, изменения образа жизни и/или лекарств показали – уменьшение уровня холестерина и ЛПНП-холестерина радикально снижают риск ИБС.

Метод - ферментативный фотометрический тест.

Принцип определения: При гидролизе эфиров холестерина образуется свободный холестерин. Образовавшийся в результате гидролиза и имеющийся в пробе холестерин окисляется кислородом воздуха под действием холестеролоксидазы с образованием эквимольных количеств перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет хромогенные субстраты с образованием окрашенного соединения, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации холестерина в пробе и измеряется фотометрически.

Нормальные величины 3,3 – 5,5 ммоль/л

Определение содержания триглицеридов в сыворотке

Триглицериды – это эфиры, состоящие из глицерина и трех молекул жирных кислот. В плазме они транспортируются в комплексе с аполипопротеинами, образуя ЛПОНП и хиломикроны. Содержание триглицеридов измеряют при скрининге липидного статуса для определения степени атеросклеротического риска и при мониторинге мер по снижению содержания липидов. Исследования показали, что повышенная концентрация триглицеридов в совокупности с увеличенной концентрацией ЛПНП обуславливает особенно высокий риск ишемической болезни сердца. Высокий уровень триглицеридов часто сопровождает болезни печени, почек и поджелудочной железы.

Метод: Ферментативный фотометрический тест с глицерол-3-фосфатоксидазой (ГФО).

Принцип определения: Липаза катализирует реакцию гидролиза триглицеридов с образованием жирных кислот и эквимольного количества

глицерина. Глицерин при наличии АТФ, гексокиназы и глицерофосфатоксидазы окисляется кислородом воздуха с образованием эквимольного количества перекиси водорода. Пероксидаза катализирует окисление хромогенных субстратов перекисью водорода в присутствии хлорфенола с образованием окрашенного продукта, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации триглицеридов в пробе и измеряется фотометрически.

Нормальные величины 1,0 – 2,29 ммоль/л.

День 23

Определение содержания показателей минерального обмена

Определение содержания кальция в сыворотке

Кальций играет жизненно важную роль во многих клеточных процессах: внутри клетки - в сокращении мышц и метаболизме гликогена, вне клетки - в минерализации костей, свертывании крови и передаче нервных импульсов. В плазме кальций присутствует в трех формах: свободный кальций, связанный с белками или в виде комплексов с такими анионами, как фосфат, цитрат и бикарбонат. Пониженный уровень общего кальция может быть связан с болезнями костей (особенно остеопорозом), болезнями почек (особенно при диализе), нарушениях работы кишечника и гипопаратиреозе. Увеличение общего кальция наблюдается при гиперпаратиреозе, злокачественных болезнях с метастазами и саркоидозе. Измерение кальция также полезно для наблюдения за поступлением кальция в организм, в основном, при предотвращении остеопороза.

Метод: Фотометрическое определение кальция с Фосфаназо III по конечной точке.

Принцип определения: В кислой среде кальций образует пурпурно-синий комплекс с Фосфаназо III (одностадийный метод).

Референтные значения (сыворотка/плазма):	мг/дл	ммоль/л
Взрослые и дети	8,6-10,3	2,15-2,57

Определение содержания железа в сыворотке

Железо присутствует в организме как компонент гемоглобина и миоглобина, а также связанное с трансферрином, для его транспорта в плазме и накопления в виде ферритина. Увеличение концентрации железа может наблюдаться при гемохроматозе и повреждениях печени. Пониженный уровень железа может быть обусловлен анемией, вызванной недостаточностью всасывания (синдромом мальабсорбции) при желудочно-

кишечных заболеваниях, а также потерей крови при желудочно-кишечных и сильных менструальных кровотечениях. Более подробную информацию для оценки состояния железа в организме может дать определение трансферрина и ферритина.

Метод: Фотометрический тест с использованием ферена.

Принцип определения: Связанное с трансферрином железо отщепляется в кислой среде в виде трёхвалентного железа и затем восстанавливается до двухвалентного в присутствии аскорбиновой кислоты. Двухвалентное железо образует с ференом окрашенный синий комплекс. Его поглощение при 595 нм прямо пропорционально концентрации железа в пробе.

Нормальные величины:

Дети:	мкг/дл	мкмоль/л
2 нед.	63–201	11–36
6 мес.	28–135	5–24
12 мес.	35–155	6–28
2–12 лет	22–135	4–24
Женщины:		
25 лет	37–165	6,6–29,5
40 лет	23–134	4,1–24,0
60 лет	39–149	7,0–26,7
Мужчины:		
25 лет	40–155	7,2–27,7
40 лет	35–168	6,3–30,1
60 лет	40–120	7,2–21,5

Определение содержания магния в сыворотке

Недостаток магния – это наиболее общее нарушение, которое может быть вызвано недостаточным питанием, малабсорбцией, потерей через почки или эндокринными расстройствами. Осложнения, связанные с пониженными концентрациями магния: нейромышечная раздражимость (например, тремор, припадки) и сердечные симптомы (например, тахикардия, аритмия). Пониженные концентрации магния очень часто сопровождается понижением уровня кальция и калия, принимая во внимание, что гипомagneземия может быть первичной причиной гипокальцемии. Повышенные уровни магния могут наблюдаться при обезвоживании, нарушениях работы почек, после приема избыточных количеств антацидов и могут быть ассоциированы со слабостью рефлексов и низким кровяным давлением.

Метод: Фотометрический тест с ксилидиновым синим.

Референтные значения:

Сыворотка/плазма	мг/мл	моль/л
Новорожденные	1,2–2,6	0,48–1,05
Дети	1,5–2,3	0,60–0,95
Женщины	1,9–2,5	0,77–1,03
Мужчины	1,8–2,6	0,73–1,06

Утилизация отработанного материала. Дезинфекция

Капилляры, наконечники с иглами и шприцы утилизируют в контейнеры утилизации отходов класса Б; пробирки эппендорф и наконечники утилизируют в контейнер для дезинфекции пробирок. Кровь утилизируют в специальный контейнер. По окончании работы поверхность стола обрабатывают ветошью, смоченной дезинфицирующим раствором (Мелисептол Фоам). Ветошь утилизируют в контейнер для дезинфекции ветоши. Перчатки утилизируют в контейнер отходов класса Б.