

# СОДЕРЖАНИЕ

---

Предисловие .....	7
Список сокращений и условных обозначений .....	9
Введение .....	11
Техника безопасности работы в лаборатории биохимических исследований .....	13
Меры предосторожности при работе с наборами реагентов для биохимических исследований .....	15
Оснащение учебной лаборатории биохимических исследований ..	17
Приборное обеспечение учебной лаборатории .....	18
Алгоритм выполнения практических работ .....	27
<b>Практическое занятие № 1.</b> Тема «Организация работы в биохимической лаборатории. Преаналитический этап лабораторных биохимических исследований» .....	29
Преаналитический лабораторный этап биохимических исследований .....	31
Практическая работа № 1 «Ликвидация аварийной ситуации, связанной с проколом кожи пальца скарификатором» .....	38
Практическая работа № 2 «Регистрация биологического материала в лаборатории» .....	39
Практическая работа № 3 «Сортировка биоматериала, поступившего в лабораторию, по видам исследований» .....	40
Контрольные вопросы и задания .....	41
<b>Практическое занятие № 2.</b> Тема «Проведение внутри- лабораторного контроля качества биохимических исследований» .....	43
Практическая работа «Освоение стадий проведения внутрилабораторного контроля качества лабораторных биохимических исследований» .....	47
Контрольные вопросы и задания .....	54
<b>Практическое занятие № 3.</b> Тема «Строение и физико- химические свойства ферментов» .....	56
Лабораторная работа № 1 «Исследование специфичности действия ферментов» .....	57

## 4 Содержание

Лабораторная работа № 2 «Исследование эффективности действия ферментов» .....	58
Лабораторная работа № 3 «Исследование влияния рН среды на активность ферментов» .....	60
Лабораторная работа № 4 «Исследование влияния температуры на активность ферментов» .....	61
Лабораторная работа № 5 «Исследование влияния активаторов и ингибиторов на активность ферментов» .....	62
Контрольные вопросы и задания .....	63
<b>Практическое занятие № 4.</b> Тема «Современные методы определения активности ферментов. Использование ферментов в лабораторной диагностике» .....	64
Практическая работа № 1 «Определение активности ферментов в сыворотке крови по конечной точке» .....	68
Практическая работа № 2 «Кинетические методы определения активности ферментов» .....	73
Практическая работа № 2.1 «Определение активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови» .....	74
Практическая работа № 2.2 «Определение активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови» .....	75
Практическая работа № 2.3 «Определение активности $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови» .....	76
Контрольные вопросы и задания .....	78
<b>Практическое занятие № 5.</b> Тема «Оценка витаминного статуса организма» .....	79
Практическая работа «Определение концентрации аскорбиновой кислоты в моче титриметрическим методом» .....	80
Контрольные вопросы и задания .....	81
<b>Практическое занятие № 6.</b> Тема «Обмен веществ и энергии, гормональная регуляция метаболизма в организме человека» .....	83
Практическая работа № 1 «Определение концентрации тиреотропного гормона в сыворотке крови» .....	84
Практическая работа № 2 «Иммунохроматографический анализ гормонов в моче» .....	89
Контрольные вопросы и задания .....	91
<b>Практическое занятие № 7.</b> Тема «Исследование показателей обмена углеводов» .....	93

Практическая работа № 1 «Определение концентрации глюкозы в крови. Построение гликемической кривой и ее анализ» .....	95
Практическая работа № 2 «Определение концентрации глюкозы в капиллярной крови с использованием портативного анализатора» .....	99
Контрольные вопросы и задания .....	101
<b>Практическое занятие № 8.</b> Тема «Исследование показателей обмена липидов» .....	102
Практическая работа № 1 «Определение концентрации общего холестерина в сыворотке крови» .....	103
Практическая работа № 2 «Определение концентрации триглицеридов в сыворотке крови» .....	106
Практическая работа № 3 «Определение концентрации холестерина липопротеинов высокой плотности в сыворотке крови» .....	108
Контрольные вопросы и задания .....	113
<b>Практическое занятие № 9.</b> Тема «Исследование показателей обмена белков. Определение уровня общего белка в сыворотке крови» .....	114
Практическая работа «Определение уровня общего белка в сыворотке крови» .....	115
Контрольные вопросы и задания .....	117
<b>Практическое занятие № 10.</b> Тема «Электрофорез белков сыворотки крови. Метод латексной агглютинации» .....	118
Практическая работа № 1 «Электрофорез белков сыворотки крови» .....	118
Практическая работа № 2 «Определение уровня С-реактивного белка в сыворотке крови методом латексной агглютинации» .....	122
Контрольные вопросы и задания .....	123
<b>Практическое занятие № 11.</b> Тема «Исследование показателей обмена белков. Определение показателей азотистого обмена» .....	125
Практическая работа № 1 «Определение концентрации мочевины в сыворотке крови» .....	125
Практическая работа № 2 «Определение концентрации креатинина в сыворотке крови» .....	128

Практическая работа № 3 «Определение концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови» .....	131
Контрольные вопросы и задания .....	133
<b>Практическое занятие № 12.</b> Тема «Исследование показателей обмена белков. Исследование показателей пигментного обмена» .....	135
Практическая работа «Определение концентрации общего билирубина и его форм в сыворотке крови» .....	136
Контрольные вопросы и задания .....	139
<b>Практическое занятие № 13.</b> Тема «Исследование показателей водно-электролитного обмена» .....	140
Практическая работа № 1 «Определение концентрации хлоридов в сыворотке крови» .....	142
Практическая работа № 2 «Определение концентрации натрия в сыворотке крови» .....	144
Контрольные вопросы и задания .....	147
<b>Практическое занятие № 14.</b> Тема «Исследование показателей кислотно-основного состояния» .....	148
Практическая работа «Определение концентрации лактата в сыворотке крови» .....	152
Контрольные вопросы и задания .....	154
<b>Практическое занятие № 15.</b> Тема «Исследование показателей минерального обмена. Лабораторная биохимическая оценка обмена железа» .....	155
Практическая работа «Определение концентрации железа в сыворотке крови» .....	157
Контрольные вопросы и задания .....	159
<b>Практическое занятие № 16.</b> Тема «Исследование показателей коагуляционного гемостаза» .....	161
Практическая работа № 1 «Проведение протромбинового теста» .....	164
Практическая работа № 2 «Определение концентрации фибриногена» .....	167
Практическая работа № 3 «Определение показателя активированного частичного тромбопластинового времени» .....	169
Контрольные вопросы и задания .....	171
Список литературы .....	172

# ПРЕДИСЛОВИЕ

---

Книга, которую вы держите в руках, обобщает опыт педагогического коллектива Санкт-Петербургского государственного бюджетного профессионального образовательного учреждения «Медицинский колледж № 3», история которого начинается с 1921 г. Очевидно, что на таком длительном пути происходили значительные изменения на всех направлениях развития страны в целом, медицины, а также среднего профессионального медицинского образования. В 2014 г. был утвержден федеральный государственный образовательный стандарт (ФГОС) среднего профессионального образования по специальности «Лабораторная диагностика», квалификация «Медицинский лабораторный техник», по которому мы работали в течение 10 лет и продолжим работать до окончания обучения по данному ФГОС до 2025 г. В 2022 г. в среднем профессиональном образовании вступил в силу новый ФГОС с требованиями к обновлению учебных программ, которые должны соответствовать требованиям современного рынка труда. Учебные программы, согласно новому ФГОС, должны быть дополнены практическими заданиями, проектами и кейсами, которые позволят студентам применять полученные теоретические знания на практике.

Значительный прогресс в развитии методов лабораторных исследований за последние 15 лет побуждает образовательные учреждения внедрять в процесс обучения современные методы анализа. Для реализации требований нового ФГОС к образовательному процессу учебные лаборатории колледжа должны быть оснащены современным оборудованием и расходными материалами, а учебный процесс должен осуществляться с помощью методического обеспечения на практических занятиях под руководством высококвалифицированных преподавателей. В связи с этим представленное вашему вниманию учебное издание весьма актуально.

Выполнение практико-ориентированных заданий с использованием современных методов в процессе обучения студентов по специальности «Лабораторная диагностика» позволит достичь конечного результата — формирования общих и профессиональных компетенций, необходимых для успешной реализации профессиональной деятельности в соответствии с потребностями современного рынка труда.

Надеюсь, что учебное издание, представленное вашему вниманию, будет содействовать реализации нашей общей цели — подготовке высококвалифицированных специалистов по специальности «Лабораторная диагностика».

Директор СПб ГБПОУ  
«Медицинский колледж № 3»,  
отличник здравоохранения  
*Наталья Витальевна Федотова*

# ВВЕДЕНИЕ

---

Цель данного учебного пособия — представить апробированные в условиях учебной лаборатории биохимических исследований лабораторные и практические работы, которые позволяют реализовать практико-ориентированный подход в рамках формирования общих и профессиональных компетенций обучающихся по специальности «Лабораторная диагностика» по профессиональному модулю (ПМ) 02 «Выполнение клинических лабораторных исследований первой и второй категории сложности», междисциплинарный курс (МДК) 02.03 «Проведение биохимических исследований».

Согласно рабочей программе СПб ГБПОУ «Медицинский колледж (МК) № 3» на изучение МДК 02.03 отведено 156 академических часов, из которых 44 ч — теория (22 лекции, продолжительность каждой — 2 академических часа), 96 ч — практика (16 практических занятий), 8 ч — промежуточная аттестация в форме дифференцированного зачета. Обучение по данному модулю проводится в течение двух семестров. Продолжительность практического занятия — 6 академических часов (270 мин), из которых 2/3 времени отведено на самостоятельную работу студентов.

Структура учебного пособия соответствует тематическому плану СПб ГБПОУ «МК № 3» по МДК 02.03 «Проведение биохимических исследований». Перед основной частью пособия представлены техника безопасности работы в учебной лаборатории биохимических исследований в соответствии с нормативными документами, оснащение учебной лаборатории биохимических исследований, алгоритм проведения практических работ. Основная часть пособия содержит 5 лабораторных и 29 практических работ. Для того чтобы студенты могли сознательно подойти к предлагаемой работе, связывая ее с теоретическим курсом, каждой теме предпослано краткое, не заменяющее учебник теоретическое введение, которое в предельно сжатом виде объясняет смысл и значение предстоящих действий.

Метод лабораторных работ используют для усвоения теоретических знаний, приобретения умений обращения с лабораторной посудой и химическими реактивами с соблюдением техники безопасности. В данном пособии представлены лабораторные работы по теме «Строение и физико-химические свойства ферментов». Практическое значение данной темы не подлежит сомнению, так как в большинстве современных методов определения активности ферментов и концентрации

субстратов ферменты применяют в качестве реактивов (энзиматические/ферментативные методы). Студентов делят на малые группы по 2–3 человека, и под контролем преподавателя они приступают к выполнению задания по инструкции. Лабораторные работы позволяют развивать коммуникативные умения обучающихся, которые также служат важным элементом в будущей профессиональной деятельности.

Метод практических работ (моделирование профессиональной деятельности) основан на опыте проведения лабораторных работ, обеспечивает углубление, закрепление приобретенных теоретических знаний. В ходе индивидуального выполнения практических работ студенты осваивают все этапы лабораторного исследования: преаналитический, аналитический и постаналитический. В результате работы по схожему алгоритму формируется навык, то есть умение автоматически осуществлять манипуляции, необходимые для конечного результата обучения — освоения профессиональной компетенции (ПК) 2.1–2.3.

Закрепить теоретические знания и оценить усвоение студентами материала, пройденного на практических занятиях, помогают контрольные вопросы по каждой изучаемой теме.

В заключительной части пособия представлен список рекомендуемой литературы, содержащий учебники и учебные пособия, которые могут быть использованы студентами в процессе освоения МДК 02.03 «Проведение биохимических исследований».

В результате обучения по программе МДК 02.03 «Проведение биохимических исследований» студенты должны продемонстрировать знания и навыки согласно требованиям ФГОС СПО от 04.07.2022 (приказ Минпросвещения России № 525 «Об утверждении федерального государственного образовательного стандарта среднего профессионального образования по специальности 31.02.03 «Лабораторная диагностика»).

ПК 2.1. Выполнять процедуры преаналитического (лабораторного) этапа клинических лабораторных исследований первой и второй категории сложности.

ПК 2.2. Выполнять процедуры аналитического этапа клинических лабораторных исследований первой и второй категории сложности.

ПК 2.3. Выполнять процедуры постаналитического этапа клинических лабораторных исследований первой и второй категории сложности.

Автор признателен кандидату биологических наук Ирине Викторовне Астратенковой и доктору биологических наук Александру Сергеевичу Пушкину за рецензирование рукописи данного учебного пособия.

Автор будет благодарен всем, кто высказает свои пожелания и замечания в отношении представленного издания.



## ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 1

# ТЕМА «ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ В БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ. ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП ЛАБОРАТОРНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ»

---

**Цель:** ознакомиться с нормативными документами, регламентирующими деятельность КДЛ; пройти инструктаж по технике безопасности работы в учебной лаборатории биохимических исследований; изучить этапы лабораторных клинических исследований; освоить отдельные манипуляции, проводимые на лабораторной стадии преаналитического этапа лабораторных биохимических исследований.

### **Теоретическое введение**

Деятельность КДЛ регламентируется следующими федеральными законами и постановлениями правительства РФ.

1. Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 28.12.2022) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (с изменениями и дополнениями, вступил в силу с 11.01.2023).

2. Приказ Минздрава России от 18.05.2021 № 464н (редакция от 23.11.2021) «Об утверждении Правил проведения лабораторных исследований» (зарегистрирован в Минюсте России 01.06.2021 № 63737).

3. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4 (редакция от 25.05.2022) «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 “Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней”» (зарегистрировано в Минюсте России 15.02.2021 № 62500).

Клинические лабораторные исследования проводят в целях выявления факторов риска и/или причин заболевания, диагностики заболевания, оценки тяжести процесса и прогноза болезни, мониторинга лечения, определения безопасности донорской крови, концентрации токсических веществ.

Согласно нормативным документам лабораторные клинические исследования включают три этапа: **преаналитический, аналитический и постаналитический**.

**Преаналитический долабораторный (внелабораторный) этап** включает выбор и назначение лабораторного исследования, оформление направления на исследование; инструктаж пациента по правилам подготовки к клиническому лабораторному исследованию; взятие (сбор) биоматериала; маркировку и идентификацию биоматериала; хранение и транспортировку биоматериала к месту проведения исследования. Пациента необходимо заранее проинформировать о правилах подготовки к взятию венозной крови для биохимических исследований: не принимать пищу в течение 12 ч до исследования, можно пить чистую негазированную воду; исключить физическое и эмоциональное перенапряжение в течение 30 мин до исследования; не курить в течение 30 мин до исследования. Взятие венозной крови проводит медицинская сестра. Взятие капиллярной крови может выполнять медицинский лабораторный техник.

**Преаналитический лабораторный этап** включает прием, регистрацию, сортировку и идентификацию биоматериала (вручную или с применением автоматизированных систем); проверку соответствия типа контейнера (пробирки) и заявленного биоматериала перечню лабораторных исследований; проверку качества поступившего биоматериала; выбраковку биоматериала ненадлежащего качества; обработку биоматериала для получения аналитической пробы; распределение биоматериала по видам и методам клинических лабораторных исследований; формирование рабочих листов по методикам исследований в электронном виде или на бумажных носителях; подготовку рабочего места, реагентов, расходных материалов и лабораторного оборудования для проведения клинических лабораторных исследований в соответствии со стандартными операционными процедурами с соблюдением правил эксплуатации оборудования и техники безопасности.

**Аналитический этап** включает проведение клинических лабораторных исследований с использованием аналитических методик, реагентов и оборудования, имеющих регистрационные удостоверения и разрешенных для применения на территории Российской Федерации, с ежедневным контролем качества лабораторных исследований и регулярным участием в межлабораторных сравнительных (сличительных) испытаниях.

**Постаналитический этап** включает валидацию (оценку пригодности) результатов исследований, интерпретацию результатов (сравнение с референтными интервалами или пороговыми значениями) с оформлением лабораторного заключения (при необходимости), передачу результатов лечащему врачу или пациенту.

В рамках аналитического и постаналитического этапов клинические лабораторные исследования подразделяют на три категории сложности. Выпускник медицинского колледжа (медицинский лабораторный техник) должен освоить выполнение клинических лабораторных исследований первой и второй категорий сложности.

- *К лабораторным исследованиям первой категории сложности (базовым или простым)* относятся исследования по обнаружению и/или измерению количества аналита в биологических образцах, оценке физико-химических свойств биологических жидкостей с помощью ручных методов, исследования при помощи тест-полосок и/или исследования, проводимые по месту оказания медицинской помощи.
- *К лабораторным исследованиям второй категории сложности (технологичным)* относятся исследования, выполняемые с использованием полуавтоматических и автоматических анализаторов, автоматизированных систем анализа, результаты которых проходят первичную оценку при сопоставлении полученных данных с референтными интервалами и пороговыми значениями; при наличии отклонений результаты дополнительно валидирует сотрудник лаборатории (приказ Минздрава России № 464).

### **Преаналитический лабораторный этап биохимических исследований**

Биоматериалом для биохимических исследований могут служить венозная, капиллярная и артериальная кровь, сыворотка и плазма крови, моча, спинномозговая жидкость, амниотическая жидкость, слюна и другие биологические жидкости организма человека.

Венозная кровь — важнейший материал для определения биохимических показателей.

Медицинский лабораторный техник обязан знать целевое назначение закрытых систем взятия венозной крови (вакутейнеров и моноветов), так как именно он принимает и регистрирует биоматериал для исследования.

В широкой клинической лабораторной практике для взятия венозной крови в основном используют следующие вакутейнеры: с красной и желтой крышкой — получение сыворотки крови для биохимических исследований; голубой — получение плазмы для коагулологических исследований; фиолетовой/лиловой — получение цельной крови для гематологических и иммунологических исследований, определения гликированного гемоглобина; зеленой — получение плазмы для биохимических анализов; серой — получение стабилизированной плазмы крови для определения концентрации глюкозы (**рис. 1.1, а**, см. цв. вклейку).

Вакутейнеры для взятия венозной крови должны соответствовать цели исследования. Необходимо обращать внимание на идентификационное кольцо: черное кольцо — стандартная пробирка; желтое — пробирка с разделительным гелем; белое — пробирка малого объема для педиатрии (**рис. 1.1, б**, см. цв. вклейку).

Сыворотка крови, в отличие от плазмы, не содержит фибриногена и других факторов свертывания крови, за исключением кальция. Преимущество использования сыворотки перед плазмой состоит в том, что для ее получения не нужны антикоагулянты, которые могут повлиять на результаты анализа некоторых анализов.

С помощью системы S-Monovette (**рис. 1.2**), в зависимости от состояния вен пациента, можно применять как вакуумный, так и шприцевой метод взятия крови. В отличие от вакутейнеров, вакуум в S-Monovette создается непосредственно перед взятием крови.

В **табл. 1.1** представлена цветовая кодировка колпачков S-Monovette по Европейской цветовой системе.

Образцы крови в пробирках должны быть доставлены в лабораторию в течение часа после взятия крови, чтобы центрифугирование было выполнено в течение 2 ч.

Если процедурные кабинеты расположены в том же здании, что и лаборатория, то биологический материал для исследований в лабораторию доставляют в закрытых контейнерах или с помощью пневмопочты. На дно контейнера для транспортировки укладывают адсорбирующий материал. Пробирки помещают строго вертикально в штатив. Чтобы исключить контакт бланков-направлений с биологическим материалом, их вкладывают в отдельный полиэтиленовый пакет. В процессе транспортирования проб информацию о пациентах сохраняют в тайне.

В пунктах взятия биоматериала, расположенных на удаленном расстоянии от лаборатории, устанавливают центрифуги для подготовки проб к транспортированию, то есть центрифугирование пробирок с кровью проводят в пункте взятия крови. Для транспортировки используют термоконтейнеры, промаркированные с помощью международного знака «Биологическая опасность». Не допускается доставка материала



**Рис. 1.2.** Система S-Monovette

**Таблица 1.1.** Цветовая кодировка колпачков S-Monovette, содержимое пробирки и целевое назначение

<b>Цвет колпачка</b>	<b>Содержимое пробирки</b>	<b>Область применения/назначение</b>
Белый	Активатор свертывания, нанесенный на гранулы	Получение сыворотки крови для биохимических исследований
Бежевый/ светло-коричневый	Активатор свертывания + гель	Получение сыворотки крови для биохимических исследований
Оранжевый	Антикоагулянт литий-гепарин натрия, нанесенный на гранулы	Получение плазмы крови для биохимических исследований
Красный	Антикоагулянт калий-ЭДТА в жидкой форме	Получение цельной крови для гематологических исследований
Светло-желтый	Ингибитор гликолиза натрия фторид + антикоагулянт ЭДТА в жидкой форме	Получение плазмы крови для определения концентрации глюкозы. Стабильность образца до 24 ч
Зеленый	Антикоагулянт натрия цитрат в жидкой форме (3,2%)	Получение плазмы крови для коагулологических исследований

в хозяйственных сумках, чемоданах, портфелях и других предметах личного пользования. Пробы сыворотки, плазмы крови после центрифугирования транспортируют в контейнерах с сепаратором (гелем). Не разрешается перевозка неотцентрифугированных проб крови, сыворотки или плазмы, контактирующих с осажденным сгустком. Образцы цельной крови пересылке не подлежат. Полученную сыворотку до передачи курьеру хранят в холодильнике (2–4 °С) или контейнере с холодильным агентом. Отобранную сыворотку можно хранить в холодильнике в течение 1–2 сут. Для более длительного хранения (что нежелательно) сыворотку необходимо заморозить при –20 °С. После размораживания при комнатной температуре сыворотку тщательно перемешивают. Повторное замораживание недопустимо.

Доставленный в лабораторию материал принимает и разбирает медицинский лабораторный техник с соблюдением мер предосторожности: штатив с вакутейнерами/моноветами помещают на лоток или поднос, покрытый многослойной марлевой салфеткой, смоченной дезинфицирующим раствором. Пробы пациента сверяют с направлением. Штрихкоды на пробирках должны соответствовать штрихкодам на направлениях.

Оценивают:

- правильность заполнения пробирок ( $\pm 10\%$  от метки): если кровь взята неверно, то нарушается соотношение активатор свертывания/кровь или антикоагулянт/кровь;
- соответствие пробирки типу взятого материала;
- наличие сгустков в пробирках с антикоагулянтом;
- правильность наклейки штрихкода, который располагают на пробирке строго вертикально цифровой надписью сверху вниз; для контроля за состоянием сыворотки/плазмы крови должна оставаться прозрачная зона; криво наклеенные штрихкоды не будут считываться сканерами анализаторов;
- если на этикетку нанесена надпись с именем, отчеством, фамилией и датой рождения пациента, то она должна быть четкой и разборчивой.

Если пробы при поступлении в лабораторию находятся в поврежденном или протекающем контейнере, то такие контейнеры открывает в боксах биологической безопасности обученный персонал, одетый в соответствующие защитные средства, чтобы избежать протечки или образования аэрозолей. Если загрязнение значительное или проба расценена как неприемлемо испорченная, ее следует, не открывая, удалить с соблюдением условий безопасности. Сведения обо всех полученных лабораторией пробах заносят в книгу учета, план-отчет, информационную систему лаборатории или иную аналогичную систему.

### **Критерии отказа от приема пробы в лаборатории:**

- расхождение между данными заявки и этикетки (инициалы, дата, время и т.д.);
- отсутствие этикетки на емкости для взятия пробы (контейнере или пробирке);
- невозможность прочесть на заявке и/или этикетке паспортные данные пациента;
- отсутствие в направлении названия отделения, номера истории болезни, фамилии лечащего врача, подписи процедурной сестры, четкого перечня необходимых исследований;
- гемолиз (за исключением исследований, на которые наличие гемолиза не влияет);
- несоответствие взятого материала емкости (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.);
- наличие сгустков в пробах с антикоагулянтом;
- истекший срок годности вакуумной емкости с взятым материалом.

Лаборатория должна в кратчайший срок уведомить уполномоченного сотрудника организации о несоответствии пробы критериям приема и ее непригодности для исследования.

Пробоподготовка биоматериала в биохимической лаборатории включает центрифугирование (при необходимости), оценку пригодности сыворотки/плазмы крови для дальнейших исследований, аликвотирование.

Условия центрифугирования вакутейнеров с венозной кровью с целью получения сыворотки и плазмы крови для биохимических и коагулологических исследований представлены в **табл. 1.2**. Для моноветов следует соблюдать те же условия.

После центрифугирования пробирок с кровью лаборант должен оценить пригодность сыворотки/плазмы крови для исследований. Дальнейшему биохимическому исследованию не подлежат пробы сыворотки/плазмы крови с видимым гемолизом, хилезностью, нитями фибрина и недобором крови.

После центрифугирования и оценки пригодности сыворотки/плазмы для исследований персонал сортирует пробы в зоны биохимии, коагулологии, иммунохимии, гематологии. Аликвотирование проб во вторичные пробирки проводят перед постановкой проб в анализаторы.

**Таблица 1.2.** Центрифугирование вакутейнеров с венозной кровью

Пробирка	Цвет крышки вакутейнера	Время, мин	Ускорение, g
Активатор свертывания кремнезем	Красный	10	1500
Сыворотка. Не ранее времени, необходимого для полного формирования сгустка. Время свертывания до центрифугирования — 30–60 мин при 18–37 °С (зависит от производителя пробирок)			
Активатор свертывания кремнезем + гель	Желтый	10	1500–2000
Сыворотка. Время свертывания до центрифугирования — 30 мин при 18–37 °С, но не позднее 2 ч после взятия крови. Повторное центрифугирование не допускается			
Натрия цитрат	Голубой	10–15	2000
Гепарин натрия	Зеленый	10	1500–2000
ЭДТА	Сиреневый	10	В зависимости от протокола анализа
ЭДТА + натрия фторид	Серый	10	1500
Плазма. После взятия крови возможно сразу центрифугирование проб			

Если в лаборатории используют автоматизированные сортировочные системы, например, Cobas р312 или автоматическую станцию преаналитической обработки образцов Beckman Coulter, то предварительная сортировка перед загрузкой пробирок с образцами во входную зону не требуется.

*Оценка пригодности сыворотки плазмы крови для дальнейшего биохимического исследования.* В норме сыворотка/плазма крови бледно-желтая, прозрачная. К изменению их цвета и прозрачности могут привести гемолиз, липемия, иктеричность.

В инструкциях к наборам реагентов в разделе «Биоматериал» всегда указана интерференция данных факторов на результаты определения конкретного аналита.

Гемолиз — процесс разрушения эритроцитов, при котором гемоглобин выходит в плазму. В пробах сыворотки/плазмы крови с выраженным гемолизом проводить биохимические исследования нельзя. В этом случае следует повторить взятие крови. Причины гемолиза: турникет более минуты, длительное хранение цельной крови — более 2 ч, сильное встряхивание, перенос крови шприцем в пробирку, патологические изменения (например, гемолитическая анемия). Внутриклеточная концентрация некоторых клеточных компонентов в 10 раз выше их внеклеточной концентрации. Гемолиз служит причиной увеличения в сыворотке крови концентрации таких аналитов, как общий белок, калий, фосфаты, активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аланинаминотрансферазы (АЛТ).

Липемия — повышенный уровень жиров в образце крови, наблюдается при концентрациях триглицеридов свыше 3,4 ммоль/л и приводит к мутности (хилезности) сыворотки/плазмы крови. Интерференция, вызываемая липемией, создает помехи путем рассеяния света и нарушения пропускания света при прохождении через реакцию смесь. При сильной мутности никакие измерения невозможны в силу ограниченной линейности спектрофотометра. Это относится к ферментативным методам, применяемым для измерения концентрации глюкозы, холестерина, триглицеридов и мочевой кислоты.

Иктеричность — это высокая концентрация билирубина и его производных в образце крови. Иктеричность встречается при различных заболеваниях печени и некоторых наследственных заболеваниях. Иктеричная сыворотка ярко-желтого цвета, оттенок которого напрямую зависит от концентрации в ней билирубина, отличающегося значительным светопоглощением при длине волны 340–500 нм. В сильноокислом растворе оптическая плотность связанного билирубина смещается в спектр ультрафиолетовых волн. Как следствие, билирубин создает помехи при исследовании ряда аналитов при этих длинах волн. В щелочных условиях билирубин окисляется и теряет часть своих оптических свойств. Это относится к ферментативным методам, используемым для измерения



уровня глюкозы, холестерина, триглицеридов и мочевой кислоты. При определении концентрации альбумина с помощью связывающих красителей билирубин может конкурировать за связывание с красителем и приводить к ложному занижению результатов.

Сывороточные индексы [индекс гемолиза (Index Hemolysis, IH), индекс иктеричности (Index Icterus, Ii), индекс липемии (Index Lipemia, IL)] получают путем пересчета параметров оптической плотности, которые дают представление об уровнях иктеричности, гемолиза или липемии в образцах крови пациентов. Степень иктеричности, липимичности и гемолитичности сыворотки/плазмы крови определяют как разницу оптической плотности на разных длинах волн.

Процедура получения информации о степенях иктеричности, липимичности и гемолитичности для сыворотки крови в ручном режиме: смешивают 200 мкл дистиллированной воды и 20 мкл сыворотки крови; к этому раствору добавляют 600 мкл 0,15 М фосфатного буфера (рН 7,4); измеряют оптическую плотность раствора при длинах волн 460, 500, 576, 597 и 750 нм. По результатам измерений вычисляют следующие величины:

- 1)  $\Delta D$  460/500 (разница оптических плотностей при 460 и 500 нм);
- 2)  $\Delta D$  576/597 (разница оптических плотностей при 576 и 597 нм);
- 3)  $\Delta D$  597/750 (разница оптических плотностей при 597 и 750 нм).

Значения в фотометрических единицах используют для оценки степеней иктеричности ( $\Delta D$  460/500), гемолитичности ( $\Delta D$  576/597) и липемичности ( $\Delta D$  597/750) каждого значения по четырехбалльной шкале — 0, 1, 2 или 3, что соответствует —, +, ++, +++ (табл. 1.3).

При проведении данной процедуры в бланках результатов анализа ставят «флаг», тем самым врач может оценить результат с учетом

**Таблица 1.3.** Ранговые значения оптической плотности для оценки степеней иктеричности, липемичности и гемолитичности сыворотки крови\*

Ранговое значение	Иктеричность ( $\Delta D$ 460/500)	Гемолитичность ( $\Delta D$ 576/597)	Липемичность ( $\Delta D$ 597/750)
0 (-)	<0,040	<0,002	<0,006
1 (+)	0,040–0,103	0,002–0,005	0,006–0,011
2 (++)	0,104–0,204	0,006–0,009	0,012–0,020
3 (+++)	>0,204	>0,009	>0,020

\* Долгов В.В., Ованесов Е.Н., Щетникович К.А. Фотометрия в лабораторной практике. СПб.: Витал Диагностика СПб, 2004. 192 с.

интерферирующих факторов. На автоматических биохимических анализаторах интерференцию гемолиза, липемии и иктеричности анализируют с помощью специальных приложений. После определения сывороточного индекса анализатор сравнивает его значение с предельными уровнями ИН, Ii и II, установленными для каждого отдельного теста. Эти предельные уровни служат дискриминационными значениями, ниже которых потенциальную интерференцию считают клинически незначимой. Если значения превышают установленные пределы, то анализатор выдает сигнальное сообщение по результатам измерений, и в бланке результатов появляется соответствующий «флаг». Сывороточные индексы полезны для контроля степени возможной интерференции, вызванной липемией, гемолизом, иктеричностью, и повышают качество результатов.

### *Практическая работа № 1*

## **ЛИКВИДАЦИЯ АВАРИЙНОЙ СИТУАЦИИ, СВЯЗАННОЙ С ПРОКОЛОМ КОЖИ ПАЛЬЦА СКАРИФИКАТОРОМ**

**Цель работы:** продемонстрировать оперативные действия медицинского лабораторного техника при ликвидации аварийной ситуации — прокола кожи пальца скарификатором. СанПиН 3.3686-21 «Требования по профилактике инфекционных болезней».

**Медицинское оборудование:** набор первой помощи.

**Расходные материалы:** средства индивидуальной защиты (перчатки, маска медицинская); дезинфицирующее средство; салфетки (марлевые сухие, антисептические); контейнер для отходов класса Б; журнал регистрации аварийных ситуаций.

### **Алгоритм выполнения практических действий**

1. Провести обработку рук на гигиеническом уровне кожным антисептиком, кожу рук осушить, надеть перчатки.
2. Сказать: «Я проколол (а) кожу пальца скарификатором».
3. Немедленно снять перчатки вывернув их внутрь наружной стороной и сбросить в контейнер с отходами класса Б.
4. Вымыть руки с мылом под проточной водой.
5. Взять набор первой помощи.
6. Обработать руки салфеткой, смоченной 70% спиртом этиловым.
7. Смазать место прокола 5% спиртовым раствором йода.
8. Заклеить место прокола пластырем.