

Преаналитический этап в диагностике ВИЧ-инфекции.

Фельдшер-лаборант клинико-диагностической лаборатории

ГБУЗ СОКЦ СПИД

А.В. Попова

15 декабря 2021 г.

Лабораторная медицина в настоящее время по количеству представляемой информации одна из самых объемных отраслей клинической медицины. Она объединяет в себе и служит базисной основой для практически всех направлений клинической медицины.

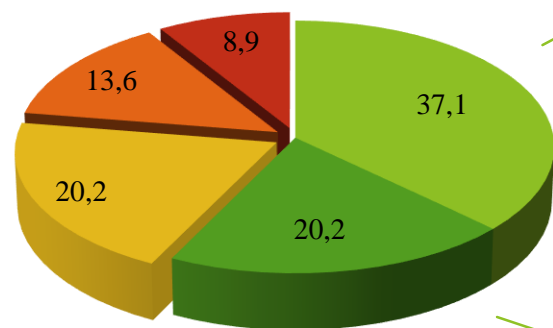
Получение качественных результатов лабораторных анализов пациента - это единый процесс, начиная от составления заявки на исследование, взятия биоматериала, его доставки, проведения исследований и заканчивая получением и использованием результатов для оказания пациенту качественной медицинской помощи. Качество этого процесса должно обеспечиваться совместными усилиями врачей, среднего медицинского персонала и специалистов лаборатории.



- ▶ Преаналитический этап в наименьшей мере находится под контролем лаборатории, т.к. значительная его часть осуществляется сотрудниками других подразделений ЛПУ.
- ▶ Результат выполнения анализа определяется не только точностью выполнения аналитической части, но и условиями, в которых находится пациент перед взятием материала, соблюдением правил забора, первичной обработки, хранения и транспортировки.



Затраты времени на этапах лабораторного исследования



-Регистрация/хранение
-Центрифугирование
-Подготовка к исследованию

-Назначение анализа
-Подготовка пациента
-Выбор метода
-Взятие биоматериала
-Транспортировка

- Преаналитический этап в лаборатории 37,1 %
- Преаналитический этап вне лаборатории 20,2 %
- Аналитический этап 20,2 %
- Постаналитический этап в лаборатории 13,6%
- Постаналитический этап вне лаборатории 8,9%

Сбор биоматериала для исследований

Для исследования аналитов в цельной крови, сыворотке и плазме лучше использовать венозную кровь.

Взятие венозной крови производит процедурная или дежурная медсестра согласно СОП.

Забор производится в вакуумные системы для взятия крови. Идентификация пациента и типа образца производится как правило с помощью штрих-кодирования.

Пункция вены должна быть малотравматичной.

Время наложения жгута – не более 1 минуты, сдавление вены должно быть соразмерным.



Цветовой код	Число перемешиваний	Область применения	Химические наполнители
 Стекло красный	—	Исследования сыворотки в клинической химии, серологии, иммунологии	Без наполнителя
 Пластик голубой	3–4 раза	Исследования коагуляции	Цитрат натрия СТАД
 Пластик черный	8–10 раз	Измерение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)	Цитрат натрия
 Пластик красный	5–6 раз	Исследования сыворотки в клинической химии, серологии, иммунологии.	Активатор свертывания
 Пластик желтый	5–6 раз	Исследования сыворотки в клинической химии, серологии, иммунологии	Активатор свертывания и разделительный гель
 Пластик зеленый	8–10 раз	Исследования плазмы в клинической химии, иммунологии	Гепарин; Гепарин и разделительный гель
 Пластик сиреневый	8–10 раз	Гематологические исследования цельной крови	ЭДТА
 Пластик розовый	8–10 раз	Пробирки для перекрестной пробы, используются при переливании крови	ЭДТА; Активатор свертывания; Без наполнителя
 Пластик серый	8–10 раз	Исследования глюкозы	Фторид натрия/ Оксалат калия; Литий-йодоацетат/ литий-гепарин
 Пластик синий	8–10 раз	Исследования микроэлементов	Без наполнителя; ЭДТА

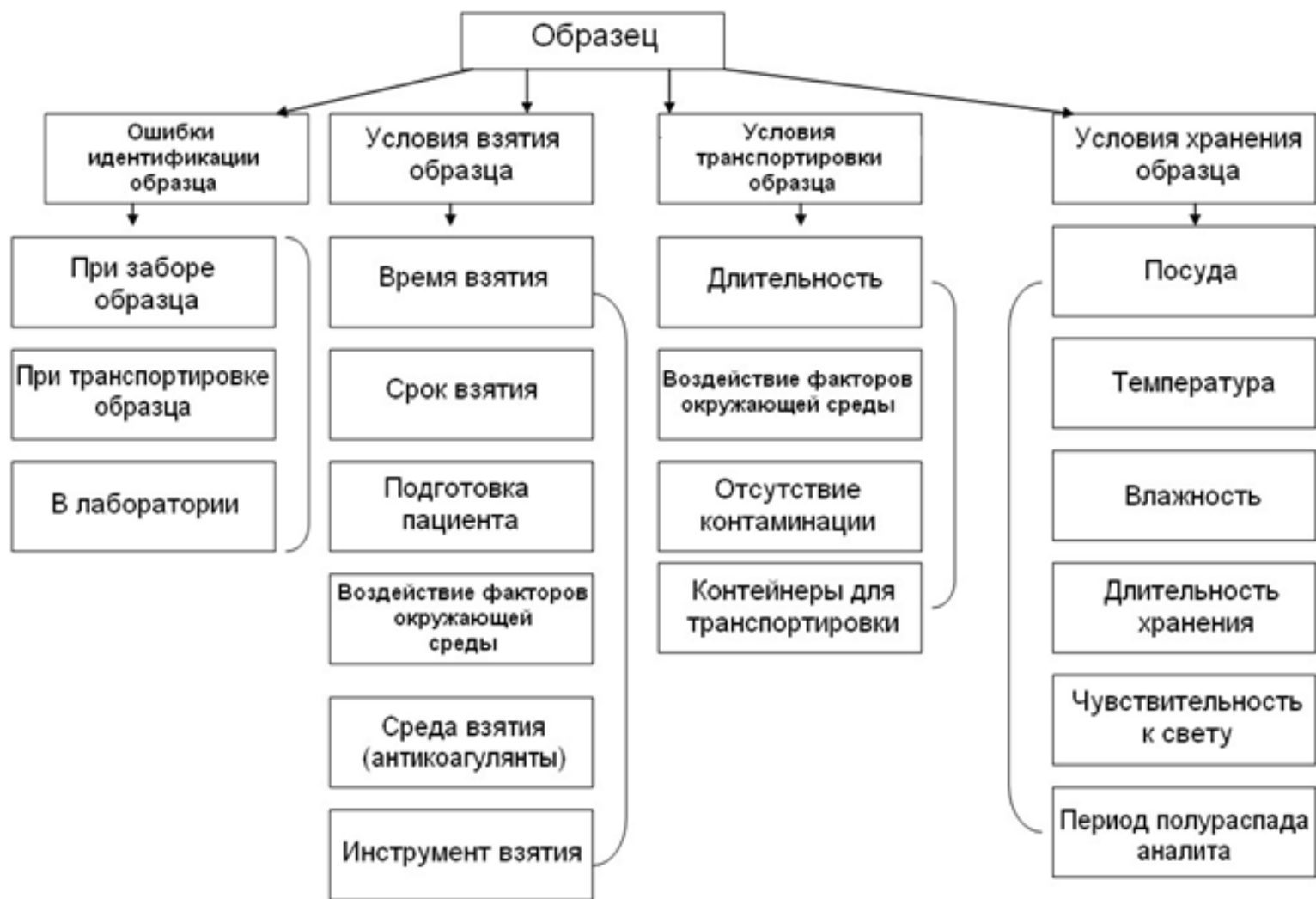
Последовательность заполнения пробирок

Важно помнить о необходимости перемешивания крови с антикоагулянтом/консервантом сразу после забора.

При плохом перемешивании — сгустки и искажение результатов.

При слишком энергичном перемешивании возможен гемолиз.

Факторы преаналитического этапа клинико-лабораторных исследований, влияющих на анализ образца



Взятие и доставка биоматериала для ПЦР диагностики

- ▶ Взятие производится в пробирки с антикоагулянтом К₂ЭДТА (сиреневая крышка).
- ▶ После взятия биоматериала, пробирку обязательно аккуратно переворачивают не менее 10 раз (для перемешивания с антикоагулянтом).
- ▶ Доставка осуществляется в термоконтейнерах:
 - при температуре +2+8°C – в течении 6 часов с момента взятия материала для количественного определения нуклеиновых кислот;
 - при температуре +2+8°C – в течении 12 часов – для качественного определения нуклеиновых кислот.
- ▶ Центрифугирование при 3000 об/мин 20 мин. при температуре +18 +24°C.

Хранение биоматериала для ПЦР диагностики

- ▶ Хранение при температуре $+2+8^{\circ}\text{C}$ в течении 1 сут. Для качественного и количественного определения ДНК (РНК) инфекционных агентов.
- ▶ **Недопустимо замораживание цельной крови!**
- ▶ Образцы плазмы и сывороток:
 - при температуре $+2+8^{\circ}\text{C}$ – в течении 5 суток.
 - при температуре -20°C – в течении года.
 - при температуре -70°C – длительно.
 - допускается только однократное замораживание-оттаивание материала, поэтому образцы для длительного хранения желательно разлить небольшими порциями.

Взятие, доставка, хранение биоматериала для диагностики иммунного статуса

- ▶ Взятие производится с антикоагулянтом К₃ЭДТА (сиреневая крышка).
- ▶ После взятия биоматериала, пробирку обязательно аккуратно переворачивают не менее 10 раз (для перемешивания с антикоагулянтом).
- ▶ Цельную кровь можно хранить не более 1 часа при температуре +18 +24°C.
- ▶ Не допускается хранение цельной крови в холодильнике.
- ▶ Не допускается встряхивание пробирок при транспортировке.

Взятие, доставка, хранение биоматериала для ИФА диагностики (ВИЧ, гепатиты, оппортунистические инфекции)

- ▶ Взятие производится в пробирки с активатором свертывания (красная или желтая крышка).
- ▶ Цельная кровь должна быть доставлена в лабораторию в день забора.
- ▶ Цельную кровь можно хранить не более 12 часов при комнатной температуре и не более 1 суток в холодильнике при температуре +4 +8°C.
- ▶ Сыворотка может храниться до 7 дней при температуре +2 +8°C.
- ▶ Для данного вида исследования гемолиз является критерием отказа в принятии лабораторией биоматериала.

Критерии для отказа в принятии лабораторией биоматериала на исследования

- ▶ - 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 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);
- ▶ - взятый материал находится в несоответствующей емкости (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.);
- ▶ - наличие сгустков в пробах с антикоагулянтом;
- ▶ - материал взят в вакуумные емкости с просроченным сроком годности.

Критерии для отказа в принятии лабораторией биоматериала на исследования

- ▶ - взятый материал находится в несоответствующей емкости (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.);
- ▶ - наличие сгустков в пробах с антикоагулянтом;
- ▶ - материал взят в вакуумные емкости с просроченным сроком годности.
- ▶ - хилез/липемия
- ▶ - недостаточное количество образца.



Гемолиз – разрушение эритроцитов крови с выделением в плазму белка гемоглобина.

Причины гемолиза *in vitro*:

- ▶ Слишком тугий жгут или длительное наложение жгута.
- ▶ Место пункции не просушено от спирта.
- ▶ Взятие и перенос крови шприцем.
- ▶ Чрезмерно интенсивное встряхивание.
- ▶ Слишком высокая/низкая температура, случайное замораживание образцов.
- ▶ Тряска/вибрация при перевозке.
- ▶ Слишком большая длительность/скорость центрифугирования.



Начиная с 2020 года, лаборатория ГБУЗ СОКЦ СПИД начала выполнять исследования на наличие РНК SARS-Cov-2.

- ▶ Среднее количество выполняемых исследований составляет 1400 проб в сутки.
- ▶ Исследования проводятся с учетом поточности биоматериала и проходят в несколько этапов (прием, сортировка, регистрация и присвоение лабораторных номеров, пробоподготовка, выделение НК (на автоматической станции или ручной методикой), амплификация с последующей детекцией, анализ полученных данных и выдача результатов).



- ▶ Также, проводятся исследования на наличие антител IgM и IgG к коронавирусу, т.к. серологические исследования могут помочь в подтверждении факта иммунного ответа на определенный вирусный патоген.
- ▶ Экспресс-тест на выявление антигена SARS-Cov-2.



Выделение НК производится с помощью автоматической станции MICROLAB STARlet Hamilton и процессора магнитных частиц Thermo Scientific KingFisher Flex.



Биоматериал доставляемый для исследования. Условия взятия, транспортировки и хранения.

Тип образца	Емкости для взятия образцов	Транспортировка в лабораторию	Условия хранения до тестирования	Примечания
Мазки из носоглотки и ротоглотки	Тупфер с флок-тампоном из дакрона или полиэстера*	4°C	≤5 дней: 4°C >5 дней: -70°C	Мазки из носоглотки и ротоглотки следует помещать в одну и ту же пробирку для повышения титра вируса.
Бронхоальвеолярный смыв (полученный путем бронхоальвеолярного лаважа)	стерильный контейнер*	4°C	≤48 часов: 4°C >48 часов: -70°C	Возможно некоторое снижение концентрации возбудителя, однако образец все же пригоден для тестирования.
(Эндо)трахеальный аспират, аспират из носоглотки или смыв из полости носа	стерильный контейнер*	4°C	≤48 часов: 4°C >48 часов: -70°C	
Мокрота	стерильный контейнер	4°C	≤48 часов: 4°C >48 часов: -70°C	Следует удостовериться, что материал получен из нижних дыхательных путей.
Тканевой образец (включая ткани легких), взятый путем биопсии или при вскрытии	стерильный контейнер с физиологическим раствором	4°C	≤24 часов: 4°C >24 часов: -70°C	
Сыворотка (2 образца, в острый период и период выздоровления, по возможности спустя 2-4 недели после острого периода)	Пробирки с сепаратором для исследования сыворотки (взрослые: взять 3-5 мл цельной крови)	4°C	≤5 дней: 4°C >5 дней: -70 °C	Взять парные образцы: • острый период – первая неделя заболевания • реконвалесценция – 2-3 неделями позднее.
Цельная кровь	пробирка	4°C	≤5 дней: 4°C >5 дней: -7 °C	Для выявления антигенного материала, особенно в течение первой недели заболевания.
Моча	контейнер для мочи	4°C	≤5 дней: 4°C >5 дней: -70°C	



Спасибо за внимание!

