

# Современные проблемы преаналитики.

# Основные проблемы современной преаналитики

- Новые исследования, требующие новых добавок
- Повышение требований со стороны производителей оборудования
- Гемолиз
- Взятие крови из катетеров

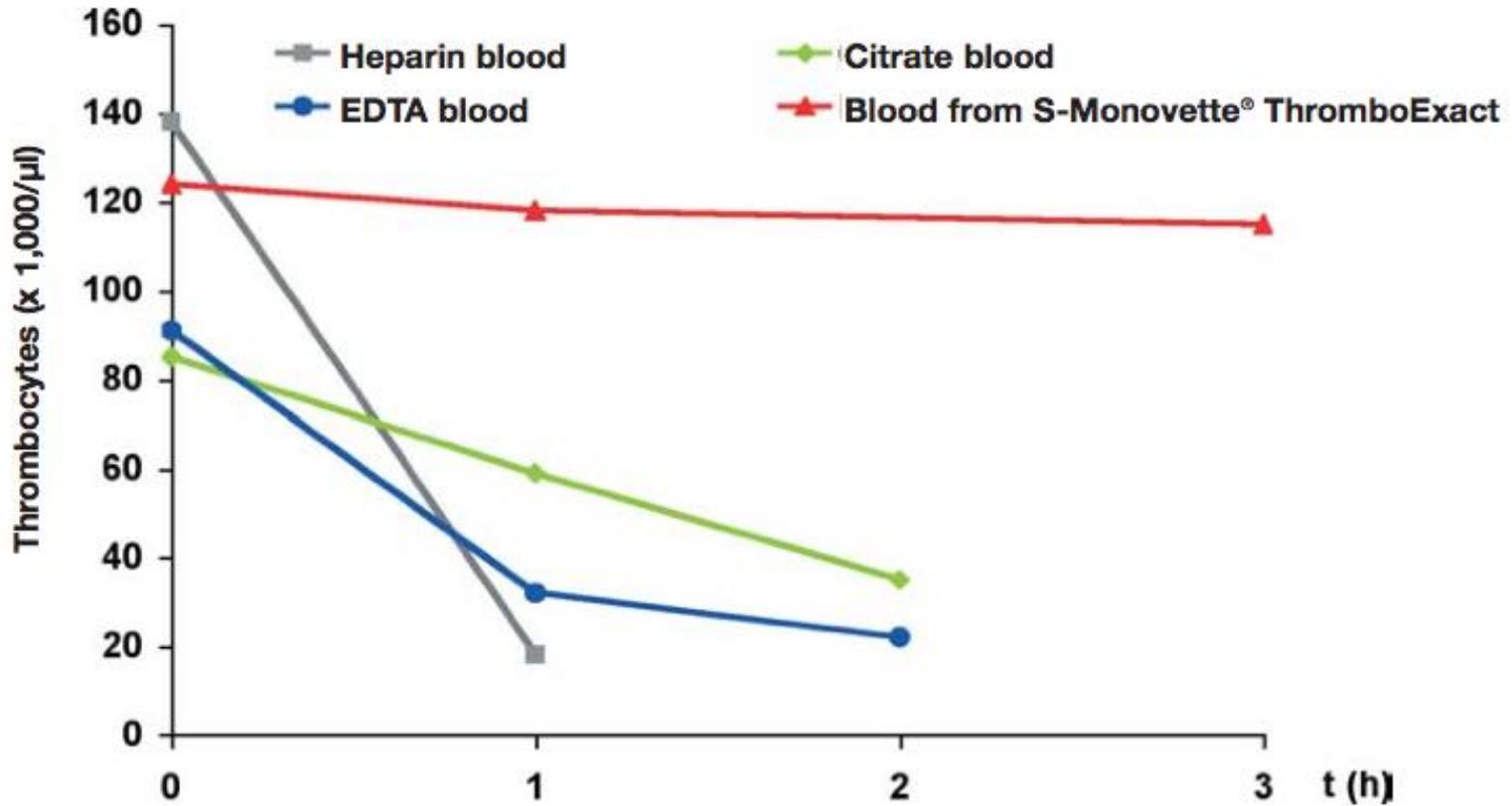
# ЭДТА

- Стандарты американского Института Клинических и Лабораторных Стандартов (ранее NCCLS) от 2010г. более не делает различий между  $K_2$  и  $K_3$  солями ЭДТА.
- В 2004г. Европейский Стандарт EN 14820 разрешил к применению  $K_2$  и  $K_3$  соли ЭДТА в качестве добавки при взятии крови у людей в концентрации 1,2 – 2,0 мг/мл крови
- Сравнение результатов подсчета формулы крови с дифференциацией эритроцитов из пробирок с одинаковыми концентрациями  $K_2$  и  $K_3$  солями ЭДТА, проведенное Beckman Coulter, выявило равнозначность в точности, стабильности и диагностической значимости.

# ЭДТА-связанная псевдотромбоцитопения

- Феномен *in vitro*, связанный с наличием специфических антител к IIb IIIa рецепторам
- Частота от 0,09% до 0,21% среди населения
- От 15% до 30% всех случаев изолированных тромбоцитопений
- Возможно снижение числа тромбоцитов при использовании цитрата и гепарина

# ЭДТА-связанная псевдотромбоцитопения



# ЭДТА-связанная псевдотромбоцитопения



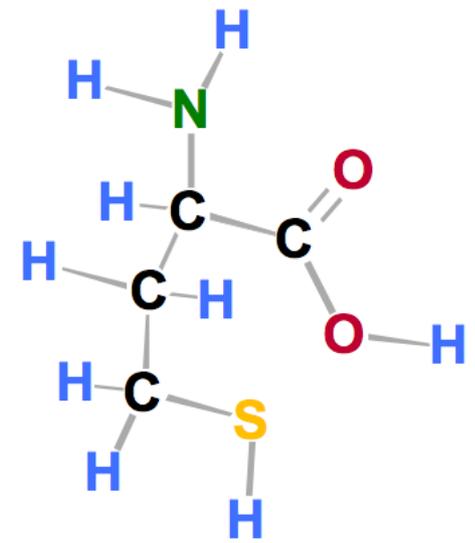
## S-Monovette® ThromboExact

Точное определение  
количества тромбоцитов в  
течение 12 часов с момента  
взятия

Нет необходимости в  
коэффициенте разведения

# Гомоцистеин

- Повышение уровня гомоцистеина крови на 5 мкмоль/л приводит к увеличению риска атеросклеротического поражения сосудов на 80 % у женщин и на 60 % у мужчин.
- У людей с повышенным уровнем гомоцистеина повышается риск возникновения болезни Альцгеймера и старческого слабоумия.
- При сочетании ГГЦ и сахарного диабета чаще возникают сосудистые осложнения — заболевания периферических сосудов, нефропатия, ретинопатия и др.
- Во время беременности повышенные уровни гомоцистеина могут быть причиной таких осложнений, как спонтанные аборт, преэклампсия и эклампсия, венозная тромбозия.
- Исследования, проведённые за последние годы, показывают, что гомоцистеин является независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний. По данным клинических исследований, увеличение концентрации гомоцистеина в плазме на 5 мкмоль/л увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний и общей смертности в 1,3 - 1,7 раза.

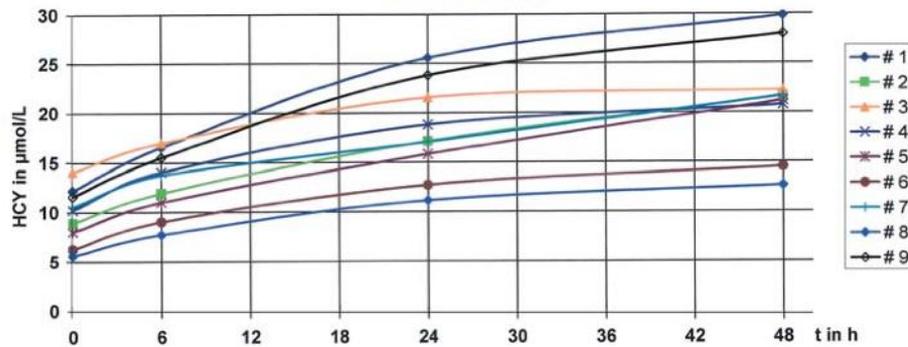


# Гомоцистеин

## S-Monovette® для определения Гомоцистеина

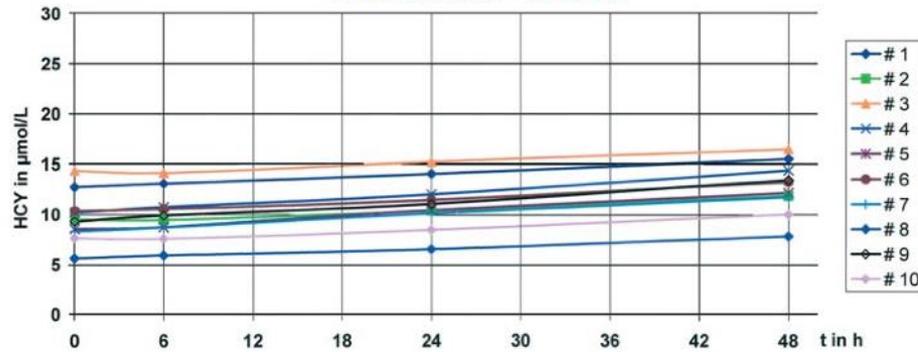
Стабильная  
концентрация 6 часов  
при комнатной  
температуре и 48 часов  
при 4°C  
Коэффициент  
разведения 1,11

EDTA Blood



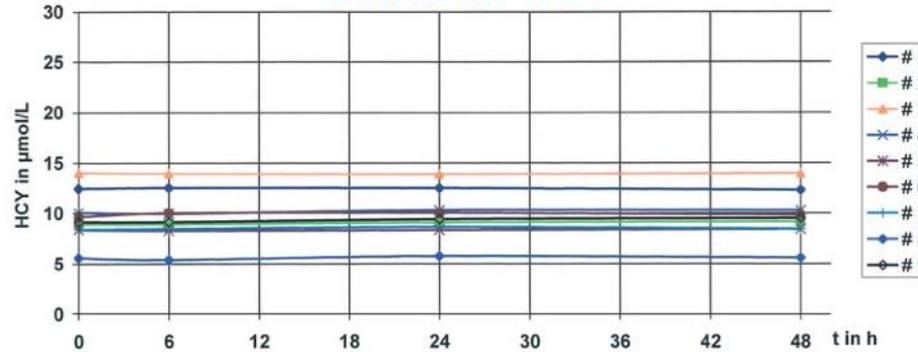
HCY values in standard EDTA blood, stored at room temperature

S-Monovette® HCY-C



HCY values in acidic citrate blood, stored at room temperature \*

S-Monovette® HCY-C

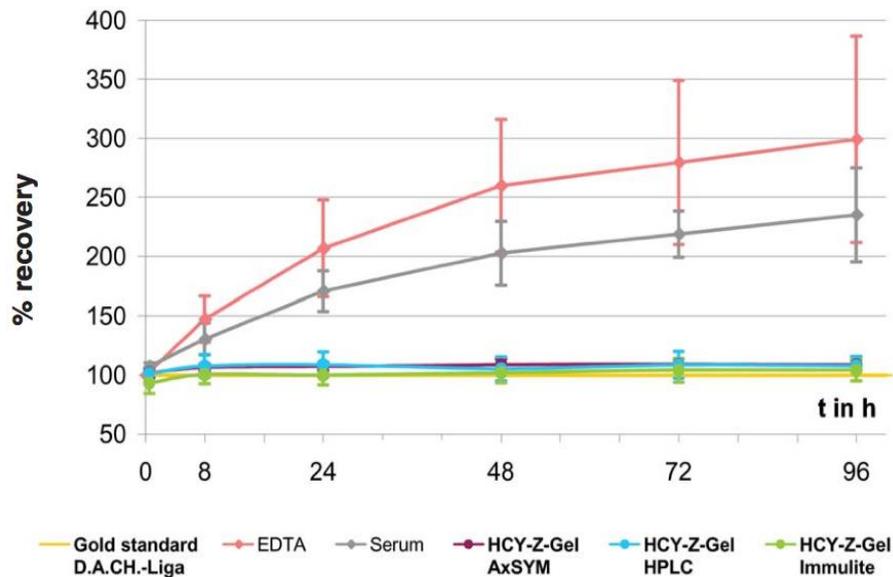


HCY values in acidic citrate blood, stored refrigerated \*

# Гомоцистеин



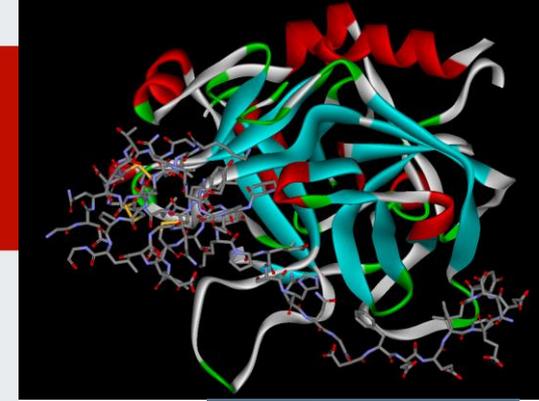
## S-Monovette® с гелем для определения Гомоцистеина



Стабильная  
концентрация 96 часов  
Коэффициент  
разведения 1,11

# Гирудин

- Рекомбинантный гирудин – прямой ингибитор тромбина, эффективно блокирующий коагуляцию *in vivo* и *in vitro*.
- Гирудин не оказывает никакого влияния на функцию тромбоцитов (активация/угнетение)
- S-Monovette® с гирудином 2,7 мл рекомендованы для использования с системой Multiplate производства Dynabyte GmbH – в настоящий момент ROCHE
- Осенью 2013г. начато исследование TROPICAL-ACS по контролю антитромботической терапии у больных с ОКС перенесшими стентирование

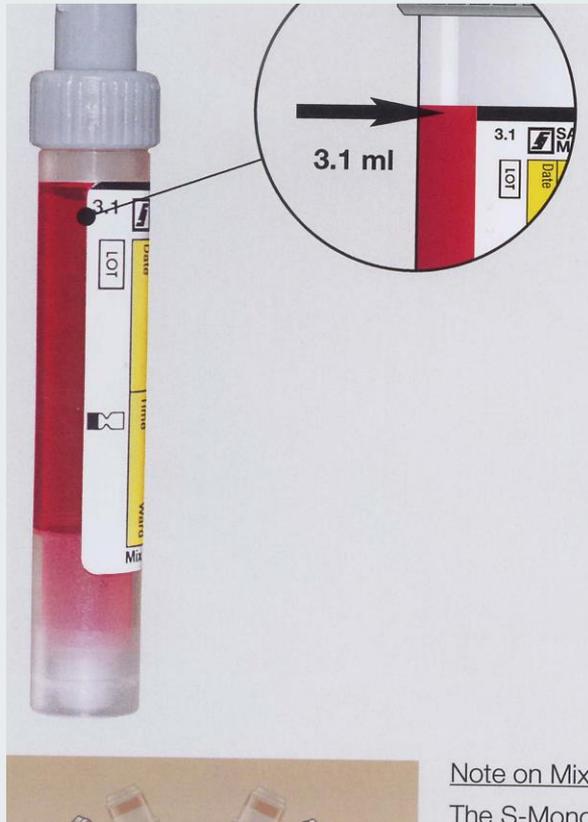


# GlucoEXACT



- По данным масштабных эпидемиологических исследований в США ГСД развивается примерно в 4% случаев всех беременностей, что в 100 раз чаще, чем беременность, протекающая на фоне сахарного диабета
- Американская Ассоциация Диабета, Немецкая Ассоциация Диабета и Немецкая Акушерско-Гинекологическая ассоциация рекомендуют использование быстрых ингибиторов гликолиза при диагностике гестационного диабета

# GlucoEXACT



- В системах только с фторидом гликолиз может продолжаться до 4-х часов, приводя к снижению уровня глюкозы до 1,0 ммоль/л – фторид блокирует энолазу в пути Эмбдена-Мейерхофа (9я реакция)
- Для немедленного ингибирования гликолиза используется смесь фторида и цитрата. Цитрат блокирует гексокиназу (1я реакция), так как она неэффективна при  $pH < 5,9$

Очень важно точное наполнение пробирки и немедленное перемешивание после взятия пробы. Фактор разведения – 1,16

# Гемолиз

- По различным данным частота гемолиза в крупных плановых лабораториях достигает 3,3% и составляет от 40 до 70% всех некачественных проб
- Максимальная допустимая концентрация свободного гемоглобина в плазме 20 мг/л, в сыворотке 50 мг/л.
- Визуально гемолиз определяется при концентрации свободного гемоглобина выше 0,3 г/л (18,8 ммоль/л), т.е. при разрушении 0,5% эритроцитов

Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. G. Lippi, N. Blanckaert, P. Bonini, S. Green et al.

Clin Chem Lab Med 2008

# Гемолиз – лабораторная классификация

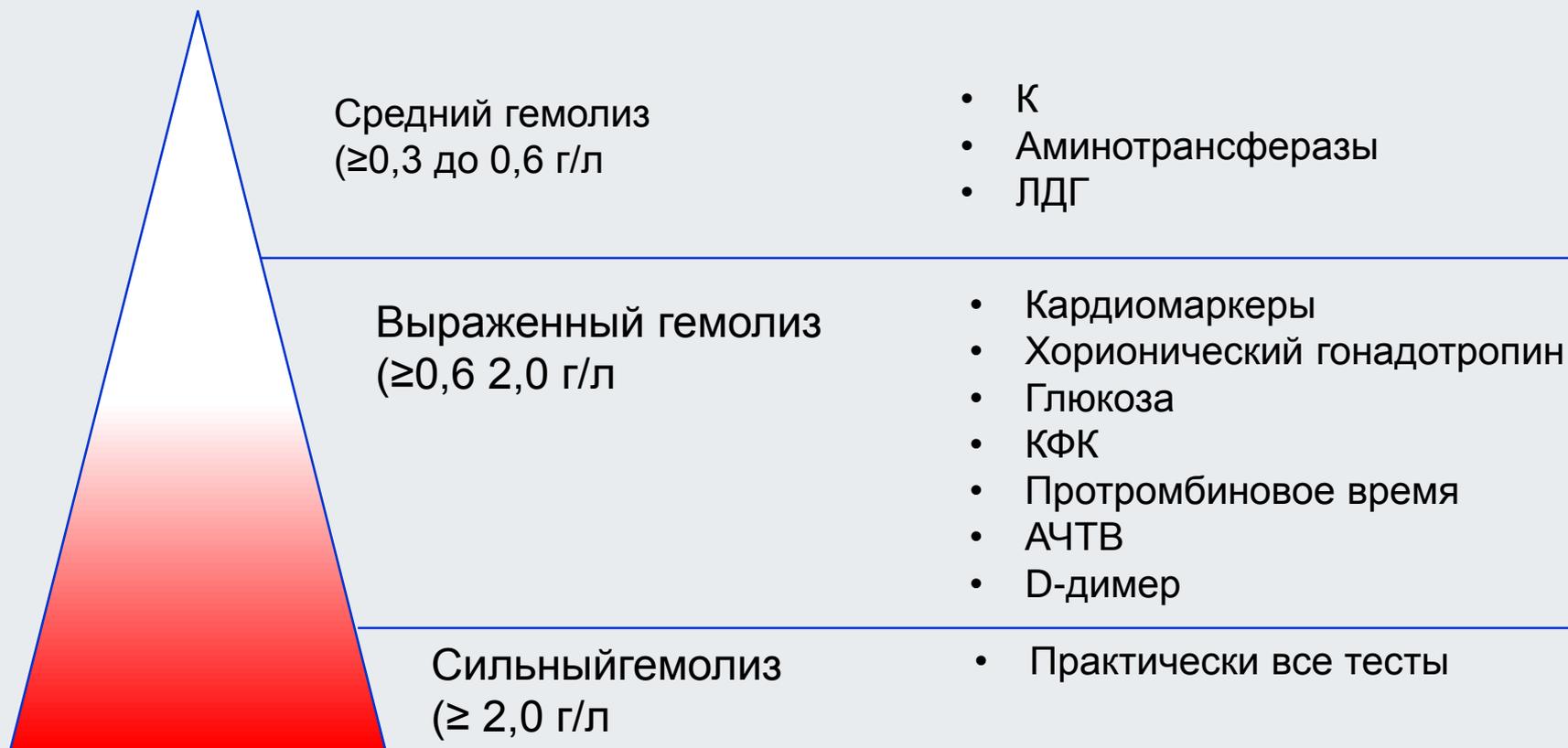
Классификация	Свободный Hb в плазме или сыворотке	Предполагаемый цвет пробы
Нет гемолиза	$\leq 0,05$ г/л	Желтый
Слабый гемолиз	$\leq 0,05-0,3$ г/л	От желтого до светло-розового
Средний гемолиз	$\leq 0,3-0,6$ г/л	От розового до светло-красного
Выраженный гемолиз	$\leq 0,6-2,0$ г/л	Светло-красный
Сильный гемолиз	$\geq 2,0$ г/л	От красного до коричневого

Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. G. Lippi, N. Blanckaert, P. Bonini, S. Green et al.

Clin Chem Lab Med 2008

# Гемолиз – влияние на исследования

- Влияние гемолиза на результаты биохимических исследований определяется множеством факторов, включая повышение абсорбции на волнах длиной 415, 540 и 570 нм.



Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. G. Lippi, N. Blanckaert, P. Bonini, S. Green et al.

Clin Chem Lab Med 2008

# Гемолиз – влияние на исследования

- Доказано влияние гемолиза и на иммунохимические исследования за счет меньшей специфичности реагентных антител в результате взаимодействия с высвобождающимися веществами
- Доказана возможность снижения уровня тропонина Т и повышения тропонина I и ПСА.
- Даже слабый гемолиз приводит к выделению ферментов разрушающих малые пептиды, такие как инсулин, глюкагон, кальцитонин, ПТГ, АКТГ и гастрин

Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. G. Lippi, N. Blanckaert, P. Bonini, S. Green et al.

Clin Chem Lab Med 2008

# Гемолиз – влияние на исследования

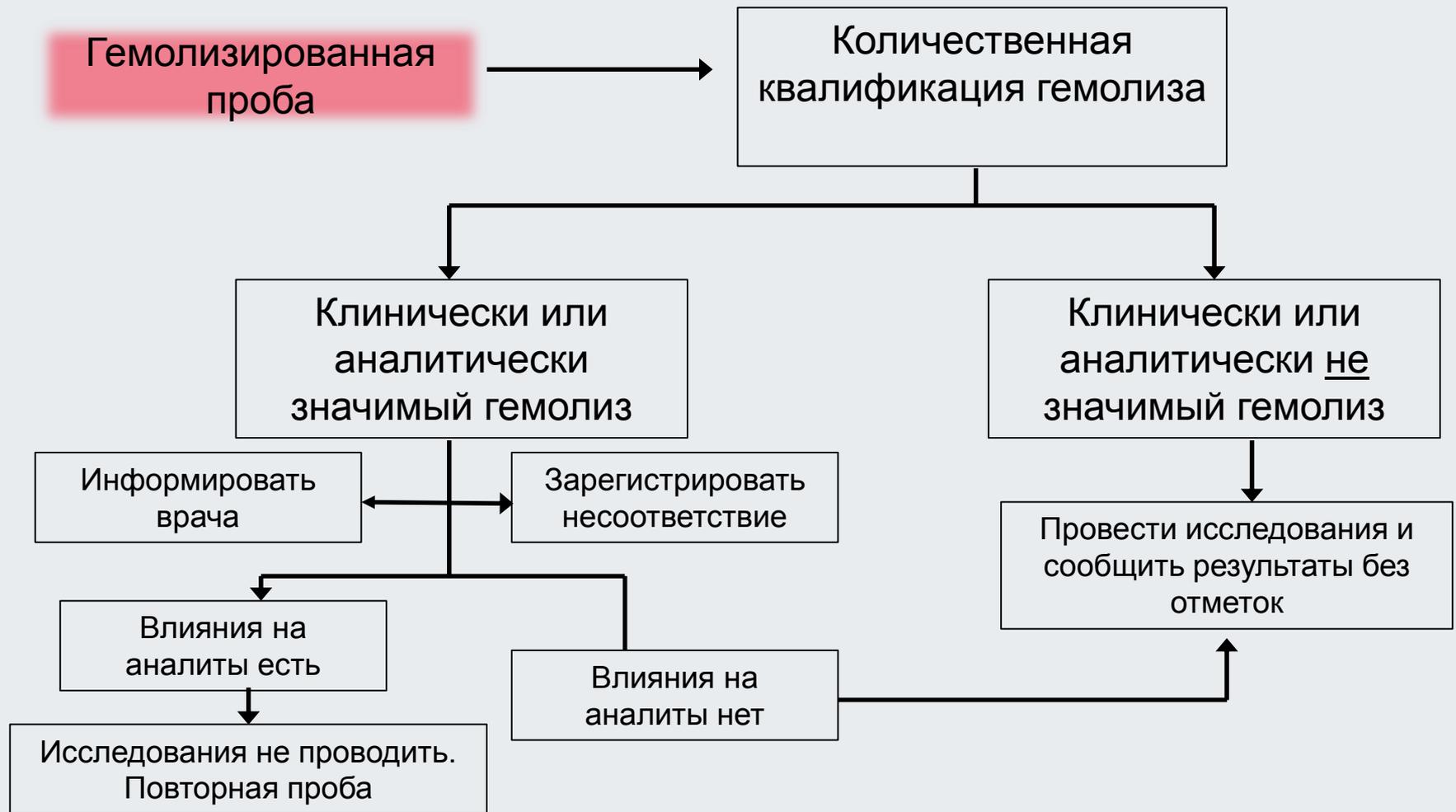
- Гемолиз оказывает влияние на коагулогические показатели:
- ✓ Удлинение тромбинового времени, увеличение уровня D-димера
- ✓ Укорочение АЧТВ и снижение фибриногена

Parameter	Bias	Cause	Reference
Adrenocorticotrophic hormone	Negative	Proteolysis	36
Activated partial thromboplastin time	Negative	Release of thromboplastic substances	39
Antithrombin	Negative	Analytical interference	41
Aspartate aminotransferase	Positive	Cellular release	27
Alanine aminotransferase	Positive	Cellular release	27
Albumin	Negative	Dilution	27
Alkaline phosphatase	Negative	Analytical interference	27
Bilirubin (neonatal)	Variable	Analytical interference	29
Bilirubin (total)	Negative	Analytical interference	23
Calcitonine	Positive	Proteolysis	36
Chloride	Negative	Dilution	27
Cortisol	Negative	Analytical interference	31
Creatine kinase	Positive	Analytical interference	27
Creatinine	Positive	Analytical interference	27
D-dimer	Positive	Release of thromboplastic substances	39
Fibrinogen	Negative	Release of thromboplastic substances	39
Folate	Positive	Cellular release	36
$\gamma$ -Glutamyltransferase	Negative	Analytical interference	27
Gastrin	Negative	Proteolysis	36
Glucagon	Negative	Proteolysis	36
Glucose	Negative	Dilution	27
Haptoglobin	Negative	Analytical interference	38
Homocysteine	Negative	Analytical interference	37
Insulin	Negative	Proteolysis	36
Iron	Positive	Analytical interference	27
Lactate dehydrogenase	Positive	Cellular release	27
Lipase	Positive	Analytical interference	27
Magnesium	Positive	Cellular release	27
Parathormon	Negative	Proteolysis	36
Phosphorus	Positive	Cellular release	27
Potassium	Positive	Cellular release	27
Prostate specific antigen	Positive	Analytical interference	31
Prothrombin time	Positive	Release of thromboplastic substances	39
Sodium	Negative	Dilution	27
Urea	Positive	Cellular release	27
Testosterone	Negative	Analytical interference	31
Troponin I	Positive	Analytical interference	31
Troponin T	Negative	Analytical interference	33
Vitamin B12	Negative	Analytical interference	31

Haer

Clin

# Гемолиз. Алгоритм действий



# Гемолиз

Современные рекомендации по преаналитике и рекомендации ВОЗ:

Результаты исследований из проб ненадлежащего качества не должны сообщаться ни при каких условиях.

Lippi G, Banfi G, Buttarello M, Ceriotti F, Daves M, Dolci A, et al. Recommendations for detection and management of unsuitable samples in clinical laboratories. Clin Chem Lab Med 2007;45:728–36.

World Health Organization. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory: stability of blood, plasma and serum samples. Geneva: World Health Organization, 2002.

# Гемолиз - причины

Пациент

Флеботомия

Транспортировка

Обработка

Хранение

# Гемолиз - причины

## Пациент

- Метаболические расстройства
- Лекарства
- Механические устройства
- Инфекции

## Флеботомия

- Катетеры
- Гематомы
- Капиллярная кровь
- Размер иглы
- Антисептик
- Жгут > 3хминут
- Травматическое взятие
- Недозаполнение пробирок
- Неперемешивание или слишком грубое перемешивание
- Переливание из шприца
- Педиатрия, онкология, БИТ

# Гемолиз - причины

## Транспортировка

- Вид транспорта: пневмопочта, курьер
- Условия транспортировки: время, температурный режим

## Обработка

- Время до центрифугирования
- Параметры центрифугирования
- Качество геля
- Повторное центрифугирование

## Хранение

- Повторное центрифугирование
- Условия хранения: температура и время

# Гемолиз – снижение частоты

- Соблюдение всех правил при взятии крови
- ✓ Обучение персонала
- ✓ Выделение флеботомии в отдельную специальность
- Взятие крови «прямой» венепункцией
- В сложных случаях – использование «шприцевого» способа

# Гемолиз – снижение частоты

T.Goegebuer, J.Debrabadere. Influence of the serum collection system on hemolysis. Focus diagnostica, 16 (2), 2008:22-25

Индекс гемолиза определялся на Cobas Integra® 800 на длине волны 629/583 нм

Наибольшая частота гемолизированных проб была из отделений: Интенсивной Терапии (EDR), Педиатрии (PD), Однодневной детской хирургии (PS/ODC) и Однодневной онкологии.

Пробы из этих отделений составляют 10,4% от всех проб, гемолиз – 35,1% от всех гемолизированных проб

# Гемолиз – снижение частоты

Табл.1: Уровень гемолиза в пробирках активатор свертывания/гель при использовании систем взятия крови разных производителей (*Vacurette® ST, Greiner Bio One; S-Monovette®, Sarstedt AG&Co; Vacutainer® SST™, Becton Dickinson and Co.*)\*

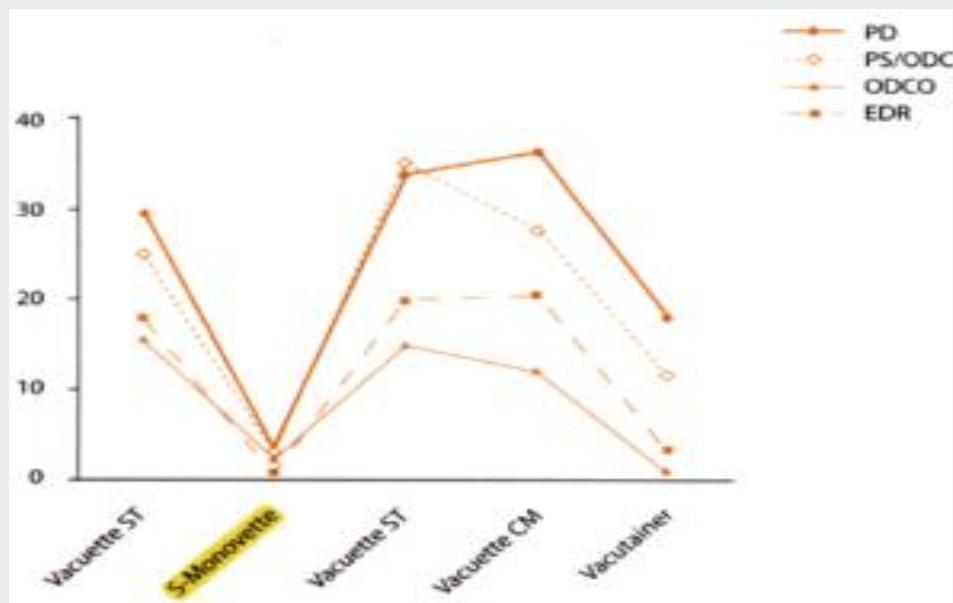
	Month 1 – Vacurette® ST			Month 2 – S-Monovette®			Month 3 – Vacurette® – ST			Month 4 – Vacurette® CM			Month 5 – Vacutainer®		
	number of samples	Hemolysis (%)		number of samples	Hemolysis (%)		number of samples	Hemolysis (%)		number of samples	Hemolysis (%)		number of samples	Hemolysis (%)	
		weak	strong		weak	strong		weak	strong		weak	strong		weak	strong
PD	175	9,1	20,6	168	2,4	1,2	164	14,0	20,1	151	15,9	20,5	138	7,2	10,9
PS/ODC	104	11,5	13,5	101	2,0	1,0	93	16,1	19,3	65	10,8	17,0	86	7,0	4,7
ODCO	392	6,4	9,4	371	1,9	0,5	339	4,4	10,6	420	4,5	7,6	429	0,7	0,5
EDR	337	8,9	9,2	306	0,6	0,3	317	6,6	13,2	264	9,8	10,6	273	2,9	0,4
Total	<b>1008</b>	<b>8,2</b>	<b>11,7</b>	<b>946</b>	<b>1,6</b>	<b>0,6</b>	<b>913</b>	<b>8,1</b>	<b>14,1</b>	<b>900</b>	<b>8,4</b>	<b>11,3</b>	<b>926</b>	<b>2,9</b>	<b>2,4</b>

EDR: Emergency Department Roeselare; ODCO: One Day Clinic Oncology; PD: Pediatrics Department; PS/ODC: Pediatric Surgery Department and One Day Clinic; Vacurette® CM: Vacurette® custom-made; Vacurette® ST: Vacurette® standard tube

\*T.Goegebuer, J.Debrabudere. Influence of the serum collection system on hemolysis. Focus diagnostica,16 (2), 2008:22-25

# Гемолиз – снижение частоты

График №1. Уровень гемолиза в пробирках активатор свертывания/гель при использовании систем взятия крови разных производителей (*Vacurette® ST, Greiner Bio One; S-Monovette®, Sarstedt AG&Co; Vacutainer® SST™, Becton Dickinson and Co.*)\*



\*T.Goegebuer, J.Debrabadere. Influence of the serum collection system on hemolysis. Focus diagnostica,16 (2), 2008:22-25

# Гемолиз

## Выводы:

1. При использовании систем **S-Monovette® (Sarstedt AG&Co)** выявлен **самый низкий уровень гемолиза – 2,2%**. Выраженный гемолиз – 0,6%.
2. При использовании систем Vacuette® ST (Greiner Bio One) уровень гемолиза составил около 20%. Выраженный гемолиз – 12,40%.
3. При использовании систем Vacutainer® SST™ (Becton Dickinson and Co) уровень гемолиза составил не более 5,3%. Выраженный гемолиз – 2,4%.
4. Качество пробы (наличие или отсутствие гемолиза) напрямую зависит от типа системы взятия крови и профессиональных навыков медицинского персонала.
5. При проведении экономических расчетов целесообразности приобретения типа системы следует учитывать не прямые затраты, связанные с выбраковкой проб (гемолиз).

# Взятие крови из катетеров

- Развитие медицины и старение населения в развитых странах привели к увеличению числа больных находящихся в отделениях интенсивной терапии
- Взятие крови из катетеров обусловлено необходимостью обеспечения комфорта и безопасности пациента и удобства и безопасности медперсонала

# Взятие крови из катетеров

## 3 способа

- «Слива» – после введения 5 – 10 мл физ.раствора от 1 до 10 мл сливаются перед взятием проб
- «Реинфузии» - «слитая» кровь вводится обратно
- «Туда-сюда» – после введения 5 – 10 мл физ.раствора, 6 мл крови трижды набираются в шприц и вводятся обратно

# Взятие крови из катетеров

№	Метод	Катетер	Результат
1	5 мл слить.	Периферия, инфузия физ р-ра или «замок». 22-16G	Кровь взята в 63%. Остановка на 3 минуты – не ведет к тромбированию
2	Слить 2 раза по 5 мл	Периферия 18 G	Результаты совпадали
3	Инфузия 100 мл физ р-ра, остановка 30 сек. : мл слить	Периферия 20G и больше	Результаты не совпадали в 2,5%
4	5 мл слить.	Периферия	Результаты совпадали
5	2 мл в пустую вакуумную пробирку	Периферия 20G «замок»	Гемолиз 21%
6	5 мл слить	Периферия	Результаты совпадали
7	1 мл слить	Периферия	Результаты совпадали

# Взятие крови из катетеров

Современными исследованиями показывают, что взятие крови из катетеров с помощью «шприцевого» способа значительно снижает частоту гемолиза

Lippi G, Avanzini P, Cervellin G. Prevention of hemolysis in blood samples collected from intravenous catheters. *Clin Biochem* 2013;46:561–4.

Lippi G, Avanzini P, Musa R, Sandei F, Aloe R, Cervellin G. Evaluation of sample hemolysis in blood collected by S-Monovette using vacuum or aspiration mode. *Biochem Med (Zagreb)* 2013;23:64–9.

Giavarina D, Filatondi E, Zerbato F, Scarzello N, Riboni V. Reducing stress shear may decrease hemolysis associated to intravenous catheter blood collection. *Biochim Clin* 2013;37:283–6.

Ong ME, Chan YH, Lim CS. Reducing blood sample hemolysis at a tertiary hospital emergency department. *Am J Med* 2009;122:1–6 [1054.e].

# Основные проблемы преаналитики в России

- Необоснованное назначение большого числа тестов.  
Например: биохимия – России ∞, в Австрии – 5,3 в Германии - 5,7
- Повторное назначение необоснованно большого числа тестов
- Слабое влияние лаборатории на преаналитический этап
- Большое количество некачественных проб:
  - Неграмотный персонал – нет информации
  - Большая нагрузка на персонал берущий кровь (процедурные сёстры) – невозможность соблюдения процедур
  - Отсутствие чётких стандартов преаналитики и механизма их контроля
  - Большое количество проб капиллярной крови

# Сравнение вакуумных систем

Таблица №2. Уровень гемолиза в пробирках активатор свертывания/гель при использовании систем взятия крови разных производителей (*Vacurette® ST, Greiner Bio One; Neovak® (C.D.Rich); Vacutainer® SST™, Becton Dickinson and Co.*)\*

Neovak®		Vacurette® ST		Vacutainer® SST™	
Сильный гемолиз (внутр. потоки)	Сильный гемолиз (внешние потоки)	Сильный гемолиз (внутр. потоки)	Сильный гемолиз (внешние потоки)	Сильный гемолиз (внутр. потоки)	Сильный гемолиз (внешние потоки)
14,4% (18 г/проб)	13,5% (168 г/проб)	1,6% (18 г/проб)	6,6% (73 г/проб)	1,2% (23 г/проб)	4,5% (68 г/проб)
125 проб	1 278 проб	1 138 проб	1 105 проб	2 580 проб	1 520 проб

\* Т.И. Долгих. Организация работы в медицинских учреждениях по применению вакуумных систем взятия крови: проблемы на преаналитическом этапе: Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией, №2, 2010.