

Федеральное государственное бюджетное учреждение
дополнительного профессионального образования
«Центральная государственная медицинская академия»
Управления делами Президента Российской Федерации

Утверждено и рекомендовано
в качестве учебно-методического
пособия, рекомендовано к печати
Ученым советом ФГБУ ДПО
«Центральная государственная
медицинская академия»
Управления делами Президента
Российской Федерации
04 апреля 2019 г.
протокол № 2

«УТВЕРЖДАЮ»
Ректор ФГБУ ДПО
«Центральная государственная
медицинская академия»
Управления делами Президента
Российской Федерации

 Е.В. Есин

«08» апреля 2019 год

Рекомендации

по преаналитическому этапу лабораторных исследований для диагностики аллергических заболеваний

Учебно-методическое пособие

Под ред. С.А. Чорбинской

Москва • 2019

Внутрилабораторный преаналитический этап

4.1. Прием, регистрация и маркировка образцов биоматериала, доставленных в лабораторию

В лаборатории выполняются: регистрация, центрифугирование, аликвотирование биоматериала и последующая его передача сотрудникам для проведения назначенных исследований.

Регистрация образцов биологического материала в лаборатории производится путем занесения информации об образцах в журнал (или электронный журнал в лабораторной информационной системе). При необходимости дополнительной лабораторной маркировки ее данные указываются на пробирке с образцом, направлении и в журнале (электронном журнале в лабораторной информационной системе).

Критерии для отказа в приеме лабораторией биоматериала на исследования:

- отсутствие маркировки (штрихкода, индикации на емкостях, контейнерах, пробирках и т. д.);
- несоответствие маркировки пробирки бланку-направлению;
- отсутствие сведений в графах направления;

- нарушение технологии сбора пробы: несоответствие объема пробирки объему образца, переохлажденный образец, образец с нарушением целостности пробирки;
- образец с видимыми повреждениями емкости.

В указанных случаях исследование биоматериала не производится.

Сотрудник лаборатории заносит информацию о причине отказа в выполнении исследования в компьютер (журнал), оперативно информирует лечащего врача по телефону и фиксирует информацию в сопроводительном бланке-направлении.

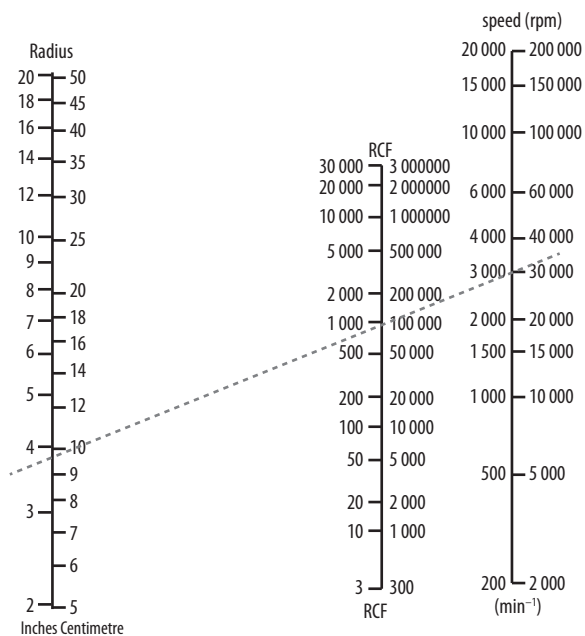
4.2. Подготовка образцов к исследованию

Основными биологическими средами для лабораторной аллергодиагностики являются:

- сыворотка венозной крови (пробирка с активатором сгустка и опционально — разделительным гелем). Центрифугирование выполняется **не ранее истечения 30 мин** после отбора крови в пробирку. В случае использования пробирок с разделительным гелем необходимо использовать модель «распадного» ротора. **Недопустимо** повторное центрифугирование первичной пробирки;
- ЭДТА стабилизированный образец венозной крови (не требует центрифугирования);
- гепарин-стабилизированный образец венозной крови (не требует центрифугирования);
- гепарин-стабилизированная плазма крови (режим центрифугирования уточняется в принимающей лаборатории);
- разовая порция мочи (обрабатывается в соответствии с методикой исследования в лаборатории).

Режим центрифугирования в зависимости от метода и вида центрифуги предполагает определенное ускорение (g) ротора ($RCF = g$), для достижения которого необходимо ориентироваться по приведенной ниже номограмме (рис. 8).

Рис. 8. Номограмма соответствия ускорения (RCF), действующего на образец в роторе, и скорости вращения (rpm), в зависимости от диаметра ротора



(Radius)

4.3. Оценка пригодности образца для исследования

Сыворотка с признаками гемолиза непригодна для анализа. При наличии признаков гемолиза запрашивается новый образец крови. Если гемолиз не вызван нарушениями технологии отбора и транспортировки образца, а обусловлен особенностями заболевания пациента, исследования гемолизированного образца выполняют с обязательной отметкой о гемолизе в направлении, результате и журнале (компьютере). Гемолиз в образце крови может изменить биохимическую картину крови, будет препятствовать определению активности ферментов.

«Хилез», «молочная сыворотка» или наличие частиц жира в образце также препятствуют выполнению лабораторных исследований. При дислипидемии необходимо указать в направлении данные осо-

бенности пациента. В результатах исследования будет отметка «хилез», что означает влияние на конечный результат неопределенного свойства.

Мутность плазмы (сыворотки) может быть вызвана ростом бактерий, попавших в пробу, особенно при несоблюдении временных и температурных условий транспортировки и хранения биоматериала. В этих случаях образец непригоден для анализа.

Заключение

Отсутствие единых стандартов преаналитического этапа лабораторных исследований в аллергодиагностике является источником ошибок как в полученных результатах лабораторного исследования, так и в последующей клинической диагностике.

Залогом уменьшения количества ошибок на преаналитическом этапе исследований является разработка стандартных операционных процедур обследования пациента в медицинской организации, сбор анамнеза и формирование направления с возможно полным перечнем необходимых лабораторных исследований, идентификация пациента и соответствия пробы биологической жидкости, направляемой на исследование, транспортировка пробы с соблюдением условий и времени доставки пробы на исследование.

Предложенные рекомендации по организации в медицинском учреждении преаналитического этапа лабораторной аллергодиагностики будут способствовать сокращению количества ошибок, улучшению качества и повышению достоверности результатов лабораторного обследования.

Тестовые задания

Выберите один правильный ответ.

Вопрос 1. Основной Федеральный закон, регулирующий отношения, возникающие в сфере охраны здоровья граждан в Российской Федерации:

- А) № 220 «Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов»
- Б) № 380 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации»
- В) № 64 «Об утверждении Номенклатуры клинических лабораторных исследований»
- Г) № 45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации»
- Д) № 323 «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»

Вопрос 2. На результаты лабораторного анализа могут повлиять следующие факторы:

- А) положение тела при взятии крови
- Б) прием лекарственных препаратов
- В) циркадные ритмы
- Г) физическое и/или эмоциональное напряжение пациента
- Д) все перечисленное верно

Вопрос 3. Основными задачами клинико-диагностической лаборатории являются:

- А) обеспечение лабораторных исследований в соответствии с профилем учреждения и других медицинских организаций, независимо от ведомственной принадлежности и формы собственности
- Б) внедрение прогрессивных форм работы и новых методов исследования
- В) повышение квалификации персонала лаборатории
- Г) оказание консультативной помощи врачам лечебных отделений в выборе наиболее информативных лабораторных тестов и трактовке данных лабораторного обследования
- Д) все перечисленное верно

Вопрос 4. Из чего складывается преаналитический этап?

- А) назначение исследования
- Б) взятие биоматериала
- В) транспортировка биоматериала в лабораторию
- Г) выполнение исследования в лаборатории
- Д) все перечисленное

Вопрос 5. В сопроводительном бланке к материалу, поступающему в лабораторию, должно быть указано следующее, кроме:

- А) фамилии, имени, отчества больного
- Б) номера истории болезни
- В) фамилии лечащего врача
- Г) вида исследования
- Д) метода исследования
- Е) предполагаемого диагноза

Вопрос 6. Венозную кровь у пациента рекомендуется брать:

- А) после приема пищи
- Б) после физиотерапевтических процедур
- В) с постоянно наложенным жгутом
- Г) из катетера после сброса 10 первых капель

Вопрос 7. Сфера использования специфических IgE в клинике не включает:

- А) первичную диагностику патологии
- Б) оценку эффективности терапии
- В) мониторинг течения заболевания
- Г) оценку прогноза заболевания
- Д) скрининг
- Е) дифференциальную диагностику

Вопрос 8. Непатологические факторы variability результатов лабораторных исследований не связаны с:

- А) биологической вариацией
- Б) ятрогенными факторами
- В) воздействием патологического агента
- Г) циркадными ритмами

Вопрос 9. В каком документе регламентируется ведение преаналитического этапа лабораторных исследований?

- А) Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ
- Б) Приказ МЗ РФ от 23.04.1985 № 545
- В) Приказ МЗ РФ от 07.02.2000 № 45
- Г) Приказ МЗ РФ от 10.05.2017 № 203н

Вопрос 10. По каким причинам лаборатория может отказать в выполнении исследования?

- А) бланк направления на исследование оформлен неправильно
- Б) маркировка контейнера с биоматериалом не соответствует информации в направлении бланке
- В) сроки доставки биоматериала в лабораторию не соблюдены
- Г) объем биоматериала недостаточен
- Д) все перечисленное

Вопрос 11. К клеткам-эффекторам неспецифической иммунной защиты относят:

- А) нейтрофилы
- Б) Т-лимфоциты
- В) макрофаги
- Г) NK-клетки
- Д) В-лимфоциты

Вопрос 12. К клеткам-эффекторам специфической иммунной защиты относят:

- А) нейтрофилы
- Б) Т-лимфоциты
- В) макрофаги
- Г) NK-клетки
- Д) клетки ретикуло-эндотелиальной системы

Вопрос 13. К факторам гуморальной специфической иммунной защиты относят:

- А) антитела
- Б) интерфероны
- В) белки острой фазы
- Г) лизоцим
- Д) систему комплемента

Вопрос 14. Иммунологическую память могут сохранять:

- А) моноциты
- Б) нейтрофилы
- В) Т- и В-лимфоциты
- Г) натуральные киллеры
- Д) стромальные клетки костного мозга

Вопрос 15. Гаптеном называется:

- А) конъюгированный антиген
- Б) антиген, индуцирующий развитие толерантности
- В) неполный антиген
- Г) Т-клеточный рецептор
- Д) Fc-фрагмент иммуноглобулина

Вопрос 16. Основными аллергенами у больных аллергическим ринитом являются:

- А) домашняя пыль
- Б) клещ домашней пыли
- В) пыльца комнатных растений
- Г) пищевые продукты
- Д) все, кроме Г

Вопрос 17. Что из себя представляют иммуноглобулины класса G:

- А) антитела
- Б) белки сыворотки крови
- В) гамма-фракции белков сыворотки
- Г) ничего из перечисленного
- Д) все перечисленное

Вопрос 18. В аллергических реакциях немедленного типа наибольшее значение имеет:

- А) сенсibilизация к аллергенам
- Б) наличие Ig E-антител
- В) наличие IgG-антител
- Г) наличие гиперчувствительности замедленного типа
- Д) все перечисленное
- Е) только А и Б

Вопрос 19. Какой основной класс иммуноглобулинов человека обладает цитотоксичностью и обеспечивает реакцию гиперчувствительности немедленного типа:

- А) IgM
- Б) IgG
- В) IgA
- Г) IgE
- Д) IgD

Вопрос 20. У больного ежегодно в период с середины апреля и до конца мая возникают явления ринита и конъюнктивита. Сенсibilизация к пыльце каких растений наиболее вероятна у данного больного?

- А) к пыльце деревьев
- Б) к пыльце злаковых трав
- В) к пыльце сорных трав

Вопрос 21. Для определения общего иммуноглобулина Е сыворотки крови используется:

- А) радиоаллергосорбентный тест
- Б) иммуноферментный анализ
- В) реакция связывания комплемента
- Г) реакция радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини

Вопрос 22. В патогенезе острой аллергической крапивницы и отека Квинке ведущую роль играют:

- А) IgG
- Б) IgM
- В) IgE
- Г) Т-зависимые механизмы

Вопрос 23. При atopическом дерматите наиболее часто встречается повышение уровня:

- А) IgE
- Б) IgA
- В) IgG
- Г) IgM

Вопрос 24. Реакцию гиперчувствительности немедленного типа обеспечивает:

- А) IgG
- Б) IgA
- В) IgM
- Г) IgE

Вопрос 25. У человека выделяют... классов иммуноглобулинов.

- А) 5
- Б) 3
- В) 7
- Г) 9

Ситуационные задачи

Выберите один правильный ответ.

Задача № 1

Пациент О., 21 год, обратился к врачу 22 мая 2003 г. с жалобами на: слезотечение, покраснение глаз, насморк, обильное отделяемое из носа слизеобразного характера, повышение температуры тела до 37,6 °С, утомляемость, раздражительность, бессонницу.

Из анамнеза известно: ежегодно в последние 3 года весной появляются вышеперечисленные жалобы. Лечился самостоятельно — нафтизин, супрастин, альбуцид с относительным эффектом. К специалистам не обращался. Лекарственной непереносимости не отмечает. Из кровных родственников — родная тетя (по материнской линии) с детства больна экзогенной бронхиальной астмой (триггеры — береза, тополь). Предполагаемый диагноз?

Предполагаемый ответ:

- А) поллиноз, аллергический ринит
- Б) ОРВИ
- В) контактный дерматит
- Г) хронический тонзиллит

Задача № 2

Пациент, 27 лет, обратился к врачу с жалобами на периодически возникающие слезотечение, светобоязнь, чувство зуда, отечность и гиперемию век. При сборе анамнеза удалось выявить, что подобные симптомы возникают исключительно на работе, после того, как он подержит в руках кролика (мужчина работает ветеринаром). Описанные выше клинические симптомы продолжаются несколько часов, после чего бесследно исчезают. В последнее время мужчина стал замечать, что описанные им клинические симптомы сопровождаются чиханием, зудом в носу и насморком. Приступов удушья больной не отмечает. Результаты проведенного кожного теста выявили гиперчувствительность к аллергенам кролика, а результаты серологического исследования — наличие в сыворотке пациента аллергенспецифического IgE к вышеуказанному аллергену. Предполагаемый диагноз?

Предполагаемый ответ:

- А) герпетическая инфекция
- Б) аллергический конъюнктивит
- В) туляремия
- Г) пастереллез, или геморрагическая септицемия

Задача № 3

Пациентку, 69 лет, во время загородной прогулки в область правого предплечья ужалит оса. Спустя 5 мин женщина почувствовала себя плохо и отметила чувство сдавления в области грудной клетки и затруднение дыхания. Затем возникло головокружение, женщина потеряла сознание и упала в обморок. Со слов супруга, находившегося рядом, женщина в это время выглядела «посеревшей», дыхание было шумным и сопровождалось свистящими хрипами, усиливающимися на выдохе. Спустя 2–3 мин женщина пришла в себя, но после попытки супруга ее приподнять опять потеряла сознание. К счастью, находившийся поблизости врач успел оказать первую медицинскую помощь и ввел женщине внутримышечно эпинефрин и антигистаминные препараты. Вызванная к месту происшествия бригада скорой медицинской помощи доставила женщину в стационар. Уже на следующий день все симптомы и последствия анафилактической реакции на ужаление осой полностью исчезли.

При сборе анамнеза было выяснено, что женщина и ранее подвергалась ужалению со стороны ос, последний из которых случился двумя неделями ранее. При

проведении лабораторного исследования было выявлено незначительное повышение уровня общего IgE в сыворотке — 147 МЕ/мл (норма — менее 120 МЕ/мл). Удалось выявить наличие в сыворотке аллергенспецифических IgE. Содержание в сыворотке IgE к яду ос составило 21 МЕ/мл, в то время как уровень IgE к пчелиному яду был низким и составлял 0,3 МЕ/мл. Предполагаемый диагноз?

Предполагаемый ответ:

- А) острый коронарный синдром
- Б) герпетическая инфекция. Герпетический менингоэнцефалит
- В) анафилаксия на ужаление перепончатокрылыми
- Г) гипогликемия

Задача № 4

Пациентка, 38 лет, была направлена на дополнительное обследование по поводу развившейся анафилактической реакции во время пребывания в стационаре. В день своего обращения в стационар по поводу простудного заболевания женщина была осмотрена дежурным врачом. Спустя 20 мин после проведения осмотра у пациентки развился выраженный отек лица и век, возникли хрипы и затруднение дыхания, учащение сердцебиения, головокружение и шум в голове. После того как у женщины начал развиваться отек языка, ее перевели в реанимационное отделение, где была проведена соответствующая терапия по поводу развившегося анафилактического шока (в частности, эпинефрин — внутримышечно, гидрокортизон — внутривенно). Симптомы анафилактического шока были быстро купированы, тем не менее женщина продолжала оставаться под наблюдением в течение последующих суток.

При сборе анамнеза никаких признаков atopических заболеваний у пациентки и ее ближайших родственников выявлено не было. Среди перенесенных оперативных вмешательств отмечает несколько операций по поводу рефлюкса мочевого пузыря, проведенных более 10 лет тому назад. Результаты диагностических аллергологических кожных проб выявили повышенную чувствительность к латексу, уровень аллергенспецифического IgE в сыворотке был очень высоким и составил 57 МЕ/мл. Предполагаемый диагноз?

Предполагаемый ответ:

- А) наследственный ангионевротический отек
- Б) менингококковая инфекция, смешанная форма (менингококкемия + менингит)

- В) лекарственная аллергия, сывороточная болезнь
- Г) реакция гиперчувствительности на латекс

Задача № 5

Родители ребенка, 10 мес., обратились к врачу с жалобами на появившиеся у него полиморфные кожные высыпания, локализованные преимущественно на лице и разгибательных поверхностях рук. При сборе анамнеза было выявлено, что беременность и роды протекали без особенностей, ребенок родился доношенным, однако практически сразу после рождения (спустя 2 нед.) был переведен на искусственное вскармливание (коровьим молоком). Результаты лабораторного исследования выявили аллергенспецифические антитела класса Е к коровьему молоку. Из пищевого рациона матери были исключены коровье молоко и другие потенциальные аллергены, способные вызвать сенсибилизацию организма ребенка и последующие клинические проявления. Ребенок был переведен на грудное вскармливание. Спустя 2–3 дня было отмечено резкое уменьшение интенсивности клинических симптомов. Предполагаемый диагноз?

Предполагаемый ответ:

- А) инфекционная эритема (парвовирус В19)
- Б) атопический дерматит
- В) герпетическая инфекция
- Г) стригущий лишай

Задача № 6

Эозинофилы служат отрицательными модуляторами воспаления. Они содержат гистаминазу, кинаиназу, ферменты, расщепляющие лейкотриены С и D (лизофосфалипазу, арилсульфатазу В, фосфолипазу D), главный щелочной белок, осуществляющий цитотоксическую функцию и нейтрализующий гепарин. Важным составляющим компонентом эозинофилов являются простагландины, которые ингибируют активность воспалительного процесса. Каким путем реализуется данный механизм?

Предполагаемый ответ:

- А) уменьшение дегрануляции тучных клеток
- Б) повышение вязкости крови

- В) снижение чувствительности гистаминных рецепторов
- Г) уменьшение миграции клеток в ткани
- Д) активируют тромбообразование

Задача № 7

Аллерголог наблюдает пациента в течение месяца после возникновения симптомов аллергии. Клинический анализ крови выявил 14 % эозинофилов.

Гельминтоз исключает. С каким свойством эозинофилов можно связать эти изменения лейкоформулы?

Предполагаемый ответ:

- А) способность фагоцитировать комплекс антиген–антитело
- Б) высокая цитотоксичность
- В) активация комплемента
- Г) выработка цитокинов
- Д) активация тромболизиса

Задача № 8

Пациентка, 43 года, каждую весну страдает от насморка, чихания, заложенности и отека слизистой оболочки носа, зуда. Она решила пройти обследование и выяснить причину. Кто должен определить круг лабораторных тестов для пациентки?

Предполагаемый ответ:

- А) лечащий врач
- Б) администратор лаборатории
- В) пациентка самостоятельно
- Г) врач клинической лабораторной диагностики

Задача № 9

Экспертиза ошибки исследования, выполненного в клинико-диагностической лаборатории, выявила, что нарушение произошло на преаналитическом этапе. Какой процесс не является составляющей преаналитического этапа?

Предполагаемый ответ:

- А) подготовка пациента к исследованию

- Б) взятие материала
- В) интерпретация полученных показателей
- Г) хранение и доставка материала
- Д) маркировка и регистрация биопробы

Задача № 10

Врач-клиницист направил пациента в лабораторию для проведения исследования специфических IgE. Кто должен организовать подготовку пациента к исследованию и получение соответствующих биоматериалов?

Предполагаемый ответ:

- А) врач-клиницист
- Б) врач клинической лабораторной диагностики
- В) фельдшер клинико-диагностической лаборатории
- Г) медсестра процедурного кабинета
- Д) самостоятельно пациент

Ответы к тестовым заданиям

№ вопроса	Ответ
1	Д
2	Д
3	Д
4	Д
5	Д
6	Г
7	Д
8	Е
9	В
10	Д
11	А
12	Б
13	А
14	В
15	В
16	Д
17	Д
18	Е
19	Г
20	А
21	Б
22	В
23	А
24	Г
25	А

Ответы к ситуационным задачам

№ задачи	Ответ
1	А
2	Б
3	В
4	Г
5	Б
6	А
7	Г
8	А
9	В
10	А

Список рекомендуемой литературы

1. Приказ Минздрава РФ от 07.02.2000 № 45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации». Здравоохранение. 2000:6–7.
2. СП 1.2.036–95. 1.2. Эпидемиология. Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности. Санитарные правила (утв. Постановлением Госкомсанэпиднадзора РФ от 28.08.1995 № 14). Информ.-изд. центр Госкомсанэпиднадзора РФ. М., 1996.
3. Аллергология и иммунология: национальное руководство / под ред. Н.И. Ильиной, Р.М. Хаитова. М.: Гэотар-Медиа, 2009.
4. Аллергология: фармакотерапия без ошибок: рук-во для врачей / под ред. Р.М. Хаитова. М.: Е-ното, 2013.
5. Аллергология. Федеральные клинические рекомендации / под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. М.: Фармарус Принт Медиа, 2014.
6. Буйнова С.Н. Лабораторная диагностика аллергических заболеваний: метод. рекомендации / С.Н. Буйнова. Иркутск: РИО ГБОУ ДПО ИГМАПО, 2015.
7. Клиническая аллергология: рук-во для практических врачей / под ред. Р.М. Хаитова. М.: МЕДпресс-информ, 2002.

8. Черешнев В.А. Избранные труды. Иммунология: учеб. / В.А. Черешнев, К.В. Шмагель. М.: ИД «Магистр-пресс», 2011.
9. Егорова М.О. Биохимическое обследование в клинической практике. / М.О. Егорова. М.: Практическая медицина, 2008.
10. Инструкция по проведению преаналитического этапа (порядок взятия, хранения и транспортировки) с биоматериалом для лабораторных исследований в центре клинической лабораторной диагностики ГВКГ им. Н.Н. Бурденко: метод. рук-во / под ред. С.П. Казакова. М: Эко-пресс, 2016.
11. Скворцова Р.Г. Долабораторная часть преаналитического этапа клинико-лабораторных исследований: метод. рекомендации / Р.Г. Скворцова, И.А. Мирошниченко, В.В. Кузьменко. Иркутск: РИО ИГИУВа, 2008.
12. McCall R.E. Phlebotomy essentials. 3rd ed. Lippincott Williams &Wilkins. 2003:302.
13. Федосеева В.Н., Стомахина Н.В., Федоскова Т.Г. Новые направления в клинико-лабораторной диагностике гиперчувствительности организма при аллергических заболеваниях. // В сб.: Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии. Матер. Межд. конф.: Весенняя сессия. Под ред. Е.Л. Глориозова. 2015:41–3.
14. Романова И.В., Гончаров А.Е. Тест активации базофилов: технология метода и его применение в клинической практике. Иммунопатол., аллергол., инфектол. 2018; 1:26–34.
15. Gell P.G.H., Coombs R.R.A. Clinical Aspects of Immunology. 1st ed. Oxford, England: Blackwell, 1963.
16. Rich R.R., Fleisher T.A., Shearer W.T., et al. Clinical immunology: principles and practice. 4th ed. Elsevier Limited, 2014.
17. Antwi-Baffour S., Quao E., Kyeremeh R., et al. Prolong storage of blood in EDTA has an effect on the morphology and osmotic fragility of erythrocytes. Int J Biomed Sci Eng. 2013;1(2):20–3.
18. Simundic AM, Bölenius K, Cadamuro J. et al. Joint EFLM–COLABIOC–LI Recommendation for venous blood sampling. Clin Chem Lab Med. 2018;56(12):2015–38.