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

omb.ru - оборудование лабораторной диагностики и расходные материалы

УДК 616-056(075.8)
ББК 52.5я73
Р36

Утверждено и рекомендовано к печати Учебно-методическим советом ФГБУ ДПО «ЦГМА» Управления делами Президента Российской Федерации (протокол № 2 от 04 апреля 2019 г.)

Авторы: М.Г. Вершинина, С.П. Казаков, Т.Г. Федоскова, А.В. Шихалеева, Н.А. Стериополо, М.О. Егорова

Под ред. С.А. Чорбинской

Рецензент:
В.В. Долгов — д-р мед. наук, проф., заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Р36 Рекомендации по преаналитическому этапу лабораторных исследований для диагностики аллергических заболеваний: учеб.-метод. пособ. / [М.Г. Вершинина и др.]; под ред. С.А. Чорбинской; М.: Практическая медицина, 2019. — 56 с.

ISBN 978-5-98811-579-3

Данное пособие содержит материал, отражающий современные представления об основных правилах, определениях по проведению преаналитического этапа для диагностики аллергических заболеваний. Соблюдение технологии преаналитической подготовки и получения пробы имеют существенное значение в обеспечении достоверности результата. В пособии приведены тестовые задания и ситуационные задачи. Предложенная структура пособия помогает выделить главные аспекты преаналитического этапа в лабораторной аллергодиагностике, организовать и конкретизировать учебный процесс.

Учебно-методическое пособие «Рекомендации по преаналитическому этапу лабораторных исследований для диагностики аллергических заболеваний» подготовлено по дисциплинам «Клиническая лабораторная диагностика» и «Аллергология и иммунология» в соответствии с федеральными государственными образовательными стандартами высшего профессионального образования для ординаторов, обучающихся по специальностям «Клиническая лабораторная диагностика (31.08.05) и «Аллергология и иммунология» (31.08.26) и учебным программам дополнительного профессионального образования «Клиническая лабораторная диагностика» и «Лабораторная аллергодиагностика в работе врача общей практики».

УДК 616-056(075.8)
ББК 52.5я73

© Коллектив авторов, 2019
© Оформление. практическая медицина, 2019

ISBN 978-5-98811-579-3

Содержание

Список сокращений 5

Введение 6

1. Механизм регулирования иммунной системы при аллергических заболеваниях 8

2. Назначение лабораторных исследований в аллергодиагностике 15

3. Основные составляющие преаналитического этапа подготовки пробы к лабораторной аллергодиагностике 24

3.1. Составление заявки на лабораторное исследование и оформление бланка-направления 27

3.2. Подготовка пациента к исследованию 29

3.3. Идентификация пациента 30
3.4. Сбор и маркировка образца 30
3.5. Хранение материала и его доставка в лабораторию 33

4. Внутрилабораторный преаналитический этап 34
4.1. Прием, регистрация и маркировка образцов биоматериала, доставленных в лабораторию 34
4.2. Подготовка образцов к исследованию 35
4.3. Оценка пригодности образца для исследования 36

Заключение 38

Тестовые задания 39

Ситуационные задачи 45

Ответы к тестовым заданиям 51

Ответы к ситуационным задачам 52

Список рекомендуемой литературы 53

Список сокращений

ECP — эозинофильный катионный белок
Ig — иммуноглобулин
ILC2 — лимфоидные клетки врожденного иммунитета второго типа
sIgE — специфический иммуноглобулин E
Th2 — Th2 лимфоциты
TNFα — фактор некроза опухоли
АСИТ — аллергенспецифическая иммунотерапия
ОРВИ — острые респираторные вирусные инфекции
ОФВ1 — объем форсированного выдоха за первую секунду маневра форсированного выдоха
СПИД — синдром приобретенного иммунодефицита
СОЭ — скорость оседания эритроцитов
СРБ — С-реактивный белок, маркер острой фазы воспаления
ТТЕЭЛ — тест торможения естественной эмиграции лейкоцитов
ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота

Введение

Преаналитический этап — комплекс мероприятий (процессов и действий), выполняемых от момента назначения лабораторных исследований до начала проведения аналитического процесса (исследования проб с помощью ручного метода либо анализатора, микроскопического анализа и т. д.).

Основная цель преаналитического этапа — обеспечение стабильности компонентов биоматериала, взятого на исследование; сведение к минимуму воздействия различных факторов, искажающих результат.

Преаналитический этап имеет большое значение в обеспечении качества всех лабораторных исследований. Лабораторная диагностика аллергических заболеваний не является исключением.

Лабораторная аллергодиагностика востребована как в педиатрии, так и при обследовании взрослого населения. Так, например, в методических рекомендациях по лабораторной диагностике аллергических заболеваний представлены лабораторные методы исследования, используемые при подтверждении аллергической природы заболевания.

Подробное описание тестов и направленность диагностического поиска приведены далее в данных методических рекомендациях. Укажем лишь основные группы тестов и необходимые для исследования биологические жидкости:

- сыворотка крови, исследование sIgE, общего IgE, триптазы, ECP, биохимический анализ (опционально), активность компонентов комплемента, исследование концентрации иммуноглобулинов Ig M, G;
- гепарин-стабилизированная проба цельной крови, тест активации базофилов;
- гепаринизированная плазма крови, определение маркеров анафилаксии: триптаза, гистамин;
- ЭДТА стабилизированная цельная кровь, подсчет эозинофилов, развернутый клинический анализ крови, определение популяций В-лимфоцитов.

Принимая во внимание перечисленные лабораторные исследования биологических жидкостей, необходимо соблюдение технологии сбора и обработки проб крови для получения адекватных результатов исследования.

Исключение ошибок на преаналитическом этапе может быть обеспечено максимальной стандартизацией всех процедур получения, транспортировки и хранения биологического материала, используемого для анализа.

Настоящие рекомендации содержат требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа исследований в медицинской организации для аллергодиагностики. Рекомендации составлены с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих получению достоверных результатов исследований.

1

Механизм регулирования иммунной системы при аллергических заболеваниях

В основе механизмов развития аллергических заболеваний лежит патологическая гиперактивация иммунной системы в ответ на определенные антигены (паттерны), которые не вызывают патологической реакции у здоровых индивидуумов. В наиболее экономически развитых странах среди всех аллергических заболеваний наиболее значимое место занимают атопические заболевания.

Согласно классификации Gell P. и Coombs R. (1963) все реакции гиперчувствительности можно разделить на четыре основных типа (табл. 1).

Ниже приведена схема патофизиологического процесса развития гиперчувствительности (рис. 1).

Приведенная схема отражает как возможные инициаторы развития IgE опосредованной аллергической гиперчувствительности, так и вероятность развития неаллергической гиперчувствительности без выработки IgE. Принимая во внимание приведенную схему, можно рассматривать конечные этапы лабораторной диагностики.

В данном разделе основное внимание будет уделено аллергическим и псевдоаллергическим реакциям, ассоциированным с патологической IgE-продукцией.

Таблица 1. Четыре типа реакций гиперчувствительности [Gell P., Coombs R. 1963]

Название	Антиген-распознающая структура	Эффекторный механизм	Участие Ig E опосредованного ответа
Тип I — гиперчувствительность немедленного типа	Иммуноглобулины класса E, IgE	Выброс активных субстанций тучными клетками	+++
Тип II — цитотоксическая реакция	Иммуноглобулины IgG1, IgG3, IgM	Комплемент-зависимый цитолиз	–
Тип III — иммунокомплексная реакция	Иммуноглобулины IgG, IgM	Реакция на отложение иммунных комплексов	–
Тип IV — гиперчувствительность замедленного типа	Т-клеточный рецептор	Клеточно-опосредованная реакция (эффекторы — макрофаги)	++

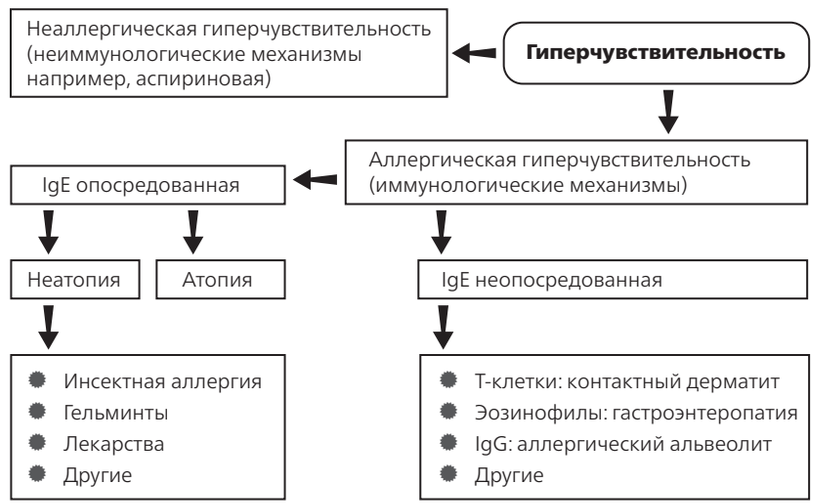


Рис. 1. Схема патофизиологического процесса развития гиперчувствительности

В механизме гиперчувствительности немедленного типа антигенраспознающей структурой для поступающего аллергена являются IgE, находящиеся на тучных клетках, с последующей дегрануляцией тучных клеток. В иммунных механизмах гиперчувствительности замедленного типа ответом является последовательная реализация реакции путем активации врожденной и адаптивной иммунной активности и формирования Th_2-механизма с продукцией В-лимфоцитами иммуноглобулинов класса Е. Последующая сенсибилизация иммуноглобулинами Е тучных клеток и базофилов и ответной продукцией активированными клетками специфических гуморальных факторов врожденного иммунитета.

Таким образом, для реализации IgE-ответа могут использоваться реакции гиперчувствительности немедленного (основной тип ответа) и замедленного типов.

С учетом сказанного выше иммунный ответ является комплексом последовательных звеньев в цепи реализации механизмов передачи сигналов от антигенов (аллергенов) через компоненты мукозальной иммунной системы с последующей активацией антигенпрезентирующих клеток (тип IV) или непосредственным взаимодействием аллергена с размещенными на мастоцитах IgE (тип I) и последующей дегрануляцией тучных клеток, развитием аллергических и псевдоаллергических реакций.

Антигены, способные вызывать развитие атопических заболеваний, представляют собой растительные, пищевые, бытовые и иные детерминанты, способные проникать через слизистые и реализовывать ответ путем адаптивного гуморального иммунного ответа с продукцией иммуноглобулинов G, в основном классов IgG1 и IgG4. В то же время патологический иммунный ответ при атопических заболеваниях приводит к Th_2-иммунному ответу с характерным синтезом определенных цитокинов. Основное значение среди цитокинов приобретают IL-4, IL-13, в функции которых входит переключение синтеза В-лимфоцитов на продукцию иммуноглобулина Е. И вторым важным условием развития данного типа реакции иммунной системы является ослабление супрессорного влияния со стороны регуляторных клеток (Treg) по неизвестным причинам. Данный тип ответа обеспечивает продукцию также и интерлейкина IL-5, что способствует включению в этот процесс активации и последующего экзоцитоза эозинофилов. Гуморальные продукты эозинофилов, в свою очередь, усиливают аллергические проявления. Наличие в подслизистом слое лимфоидных клеток врожденного иммунитета второго типа (ILC_2) и их последующая активация, а также реализация путем усиления продукции цитокинов (IL-4, IL-5, IL-13) поддерживают гиперчувствительность немедленного типа. Возможно, врожденный иммунитет запускает и патологический иммунный ответ как по Th_2-типу, так и влияя на конечные клеточные линии, участвующие в аллергическом иммунном ответе — В-лимфоциты, эозинофилы, тучные клетки, базофилы.

Продуцируемые лимфоидными клетками врожденного иммунитета второго типа (ILC_2) цитокины (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13) обладают определенными функциями, которые способствуют поддержанию и развитию патологического атопического иммунного ответа как I, так IV типа.

Наиболее сложным представляется механизм развития аллергических реакций замедленного типа. Ключевым фактором реакций замедленного типа служит последовательная активация клеток врожденной иммунной системы (Innative и Innative-Like), среди которых выделяют антигенпрезентирующие клетки (макрофаги, дендритные клетки) и другие клетки — лимфоидные клетки врожденного иммунного ответа, натуральные киллерные клетки, эозинофилы, базофилы, мастоциты. Перечисленные выше клетки врожденной иммунной системы также участвуют в усилении проведения сигнала и преумножении полученного ответа. Механизм развития гиперчувствительности замедленного типа, его регуляция клеточным звеном адаптивной иммунной системы представлены на рис. 2.

В механизмах развития аллергических заболеваний значительная роль отводится гуморальным факторам врожденной иммунной системы — таким как система комплемента, а также секреторные продукты, которые продуцируют эозинофилы, базофилы, тучные клетки. Повышение концентрации гуморальных факторов свидетельствует о развитии аллергических и псевдоаллергических реакций. Эозинофилы содержат в цитоплазме первичные гранулы, богатые лизофосфатазой; вторичные «специфические» гранулы, состоящие из эозинофильного — основного белка, катионного белка,

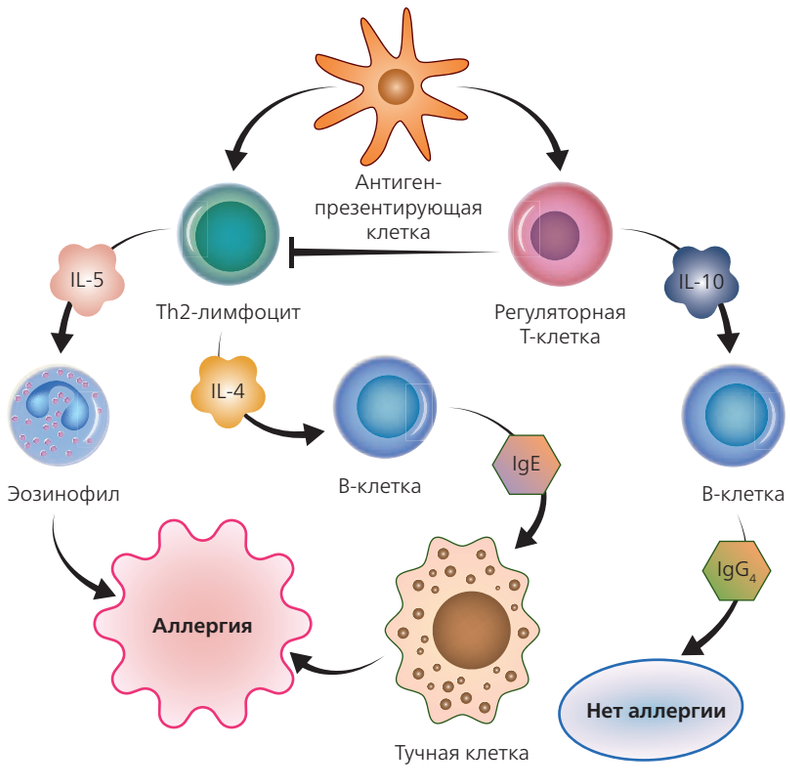


Рис. 2. Механизм развития гиперчувствительности замедленного типа (В.А. Черешнев, К.В. Шмагель, 2011)

белка X, пероксидазы, коллагеназы, β-глюкоронидазы; маленьких гранул, представленных арилсульфатазой B, кислой фосфатазой и липидными тельцами, насыщенными циклооксигеназой, 5-липоксигеназой, лейкотриенами (LTC4) и синтетазой арахидоновой кислоты. Такие компоненты, как эозинофильный катионный белок (ECP), лейкотриены и липоксины, а также цитокины, продуцируемые эозинофилами, активно участвуют в связывании аллергических антигенов (паттернов) и поддержании воспалительного ответа у пациентов.

Мастоциты и базофилы рассматриваются как ключевые эффекторы Ig E-ассоциированных реакций, так как на поверхности мастоцитов и базофилов экспрессируются высокоаффинные рецепторы для Ig E (FcεRI). На поверхности тучных клеток и базофилов в значительном количестве экспрессируются низкоаффинные рецепторы для Ig E (FcεRII, FcεRIII). Высокая скорость высвобождения медиаторов из мастоцитов (базофилов — при анафилактической реакции) после их минутного (иногда секундного) взаимодействия с аллергеном обусловливает патофизиологические реакции гиперчувствительности немедленного, а также и замедленного типа.

Продукция мастоцитами/базофилами гуморальных факторов, относящихся к врожденному иммунному ответу, приводит к развитию патофизиологических процессов при аллергических реакциях. Среди гуморальных факторов необходимо отметить G-протеины; ферменты — гидролазы — β глюкуронидаза, β-гексозаминидаза, β-D-галактозидаза; протеолитические ферменты — триптаза, карбоксипептидаза, химаза; протеогликаны — гепарин и хондроитинсульфат E (гистамин); простаноиды — простагландины (ПГД2), тромбоксаны, (ТХА2) и лейкотриены (LTC4); цитокины: базофилы — ИЛ-4, IL-13; мастоциты — IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-25, GM–CSF, ФНО-α.

По функциональным свойствам все вышеперечисленные медиаторы являются вазоактивными. Воздействие медиаторов способно вызывать сокращение гладкой мускулатуры, стимулировать периферические нервные окончания; они обладают хемотаксическим действием, специфической ферментативной активностью, четко направленным иммунотропным действием и другими патофизиологическими эффектами в зависимости от анатомических особенностей места развития аллергии и содержания в них клеточных и гуморальных компонентов врожденной (мукозальной) иммунной системы.

В случаях развития реакций гиперчувствительности немедленного типа продукция медиаторов способствует развитию быстрого и сильного патофизиологического ответа с включением в реакции эпителиальных и эндотелиальных клеток. Результатом реакций служит отек и ускорение миграции клеток к месту проникновения аллергена.

Так, потенциальными причинами активации тучных клеток при крапивнице и ангионевротическом отеке с развитием IgE-опосредо-

ванной гиперчувствительности немедленного типа являются аллергены, модифицированные IgE, IgG4, аутоиммунные анти-Ig E, FcεRI, FcεRII (CD23) на тромбоцитах, лимфоцитах и эозинофилах.

В реакциях активации тучных клеток значительную роль играют не только группы факторов (медиаторов), представленные липидами, белками, цитокинами, физико-химическими факторами, такими как гиперосмолярность, но и содержание на поверхности тромбоцитов специфических рецепторов, участвующих в активации и дегрануляции самих тучных клеток при аллергическом ответе. Клеточные поверхностные рецепторы, экспрессирующиеся на тучных клетках, включают ко-стимулирующие рецепторы (CD28), молекулы адгезии (интегрины), молекулы первого и второго классов главного комплекса гистосовместимости — присутствующие в основном на популяциях лимфоидных клеток. Так, воздействие на рецептор лимфоидных клеток CD28 приводило к ранней активации тучных клеток и усилению секреции из них TNFα, аналогично продукции этого цитокина при стимуляции высокоаффинного IgE рецептора аллергенами. Такая реакция тучных клеток может быть предпосылкой для реализации многообразных специфических форм взаимодействия мастоцитов с основными типами клеток адаптивной иммунной системы, эндотелиальными клетками, эозинофилами, натуральными киллерными клетками, нейтрофилами и другими клетками, ассоциированными или прямо участвующими в конкретном иммунном ответе.

Таким образом, в реализации иммунных механизмов аллергических и псевдоаллергических реакций лежат нарушения, в основном ассоциированные с реакциями гиперчувствительности немедленного типа (тип I) и реакциями гиперчувствительности замедленного типа (тип IV). Кроме того, вышеуказанные реакции опосредованы Ig E-взаимодействием, при котором отмечаются патологический иммунный ответ с участием гуморальных факторов (тип I) и клеточно-опосредованный патологический ответ (тип IV).

Назначение лабораторных исследований в аллергодиагностике

Основной задачей специфической аллергодиагностики служит выявление причин и факторов, способствующих формированию и манифестации аллергического заболевания (АЗ), с целью определения дальнейшей стратегии лечения больного. Диагностическое обследование включает комплекс исследований, позволяющих установить аллергический генез заболевания и причинно-значимый аллерген различной природы (пыльцевой, пылевой, пищевой, лекарственный и пр.).

Для диагностики аллергического заболевания (аллергический ринит, бронхиальная астма, аллергодерматозы и др.) применяют специфические и неспецифические методы обследования.

Специфическое аллергообследование включает сбор аллергологического анамнеза, обследование *in vivo*, а также лабораторную диагностику *in vitro*. Объем специфического аллергологического обследования зависит от нозологии и определяется после сбора аллергологического анамнеза и осмотра пациента.

Специфические методы обследования *in vivo*:

- Специфическое кожное тестирование. При отсутствии обострения больным рекомендовано проведение кожного тестирования: prick (тесты или скарификационные тесты со стандартным набором неинфекционных (атопических) аллергенов (бытовыми, эпидермальными, пыльцевыми, пищевыми и др. аллергенами)). Не рекомендовано проведение тестирования при употреблении антигистаминных препаратов, β-блокаторов, системных глюкокортикостероидов. Дополнительные методы: внутрикожные тесты (с бактериальными и др. аллергенами), аппликационные тесты (с лекарственными средствами, красителями и др. — для выявления гиперчувствительности замедленного типа).
- Тест торможения естественной миграции лейкоцитов (ТТЕЭЛ) (тест А.Д. Адо). В литературе имеются сообщения о возможности использования ТТЕЭЛ для диагностики лекарственной аллергии к лекарственному средству (пенициллину, цефалоспорину, аминогликозидам, макролидам, тетрациклинам, сульфаниламидам, местным анестетикам). ТТЕЭЛ особенно целесообразен для дифференциальной диагностики аллергических и псевдоаллергических реакций на медикаменты. Помимо получения быстрого ответа о сенсибилизации к препарату, он позволяет выявлять лекарственную аллергию независимо от иммунопатологического механизма, лежащего в основе аллергической реакции. ТТЕЭЛ противопоказан для проведения *in vivo* при острых воспалительных заболеваниях полости рта, обострении аллергического заболевания, полном отсутствии зубов. За 1–2 нед. до исследования по возможности прекращают прием глюкокортикостероидов, антигистаминных препаратов, иммунодепрессантов. Во время проведения теста не рекомендуется принимать пищу, пить. В день исследования на время проведения ТТЕЭЛ отменяют все лечебные процедуры.
- Провокационные тесты (по показаниям): конъюнктивальный, назальный, ингаляционный, холодовый тест и др. Провокационные тесты являются одним из методов диагностики аллергического заболевания, их проводят при наличии положительных данных аллергологического анамнеза и повышенной чувствительности больного к определенным веществам. Провокационные тесты дают достоверный результат и являются наиболее значимыми при диагностике аллергии, однако их не следует проводить в период обострения заболеваний как аллергического, так и неаллергического генеза. Противопоказания к проведению провокационных тестов те же, что и к проведению кожных проб.

Решающими являются клиническая картина заболевания и результаты специфических методов обследования.

Аллергологическое исследование *in vivo* противопоказано при наличии диффузного кожного процесса или других противопоказаний к аллергологическому обследованию *in vivo* (обострение основного заболевания, тяжелое декомпенсированное течение бронхиальной астмы (объем форсированного выдоха за первую секунду маневра форсированного выдоха [ОФВ1] < 70 %), острые интеркуррентные инфекционные заболевания (острые респираторные вирусные инфекции [ОРВИ] и др.), декомпенсация заболеваний внутренних органов, обострение хронических инфекционных заболеваний (туберкулез и др.), аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка, ревматоидный артрит и др.) в стадии обострения, первичные иммунодефициты, в анамнезе — возникновение анафилактического шока при проведении кожного тестирования, злокачественные новообразования, психические заболевания, при которых невозможен контакт с пациентом, СПИД, а также ранний детский возраст. Аллергологическое исследование *in vivo* противопоказано также для пациентов с высокой степенью сенсибилизации; при непрерывно рецидивирующем течении заболевания без периодов ремиссии; невозможности отмены антигистаминных и других препаратов; поливалентной сенсибилизации, когда отсутствует возможность проведения тестирования *in vivo* сразу со всеми предполагаемыми аллергенами в ограниченные сроки обследования; резко измененной реактивности кожи; ложноположительном или ложноотрицательном результате кожного тестирования; уртикарном дермографизме.

В данном пособии приведены основные направления лабораторного обследования пациента *in vitro*.

Неспецифические методы лабораторного обследования

Основными клинико-лабораторными обследованиями при аллергопатологии являются:

- клинический анализ крови, развернутый (с акцентом на исследование эозинофилии периферической крови);
- клинический анализ мочи;
- цитология мазка из носа (с подсчетом количества эозинофилов).

2

Специфические методы лабораторного обследования

- определение содержания IgA, IgM и IgG в сыворотке;
- определение уровня общего и специфических IgE. Концентрация в сыворотке общего количества IgE в большинстве случаев существенно превышает нормальные значения, но не является специфическим признаком аллергического заболевания. Примерно в 30 % случаев пациенты с аллергическими заболеваниями имеют уровень общего IgE в пределах референсных значений. Некоторые больные могут проявлять чувствительность только к одному аллергену, в результате чего концентрация общего IgE может находиться в пределах нормы, а кожные пробы и специфический IgE может отражать выраженную реакцию. Концентрация общего IgE повышается также при неатопических состояниях (глистная инвазия, малярия, бронхолегочный аспергиллез, заболевания печени и др.) с последующей нормализацией после соответствующей терапии. Референсные границы IgE, определенные для европейцев, не могут быть применены для представителей эндемичных по гельминтозам регионов и антител изотипа IgE к неинфекционным аллергенам или их компонентам с помощью различных методов.

Наглядным отражением сказанного выше является таблица 2.

Определение уровня специфических IgE/IgG способствует выявлению/оценке:

- латентной (скрытой субклинической) сенсибилизации;
- риска развития анафилактической реакции — обнаружение высоких уровней специфических IgE при отсутствии клинических

Таблица 2. Болезни и состояния, сопровождающиеся изменением содержания общего IgE сыворотки крови

Болезни и состояния	Возможные причины
I. Повышенное содержание IgE	
Аллергические болезни, обусловленные IgE: АР, АБА, АтД, аллергическая гастроэнтеропатия, системная анафилаксия	Аллергены: ● пыльцевые; ● пылевые; ● эпидермальные; ● пищевые; ● лекарственные препараты; ● химические вещества; ● металлы; ● чужеродный белок
Аллергический бронхопульмональный аспергиллез	Неизвестны
Паразитарные инвазии	Гельминты и др.
Гипер-IgE синдром (синдром Джоба)	Дефект Т-клеток
Селективный IgA дефицит	Дефект Т-клеток
Синдром Вискотта—Олдрича	Неизвестны
Аплазия тимуса (синдром Ди Джорджи)	Неизвестны
IgE-миелома	Неоплазия IgE-продуцирующих плазматических клеток
Реакция «трансплантат против хозяина»	Дефект Т-клеток
II. Сниженное содержание общего IgE	
Атаксия — телеангиэктазия	Дефекты Т-клеток

симптомов указывает на потенциальный риск возникновения аллергических реакций на конкретный аллерген;

- IgE-обусловленного воспалительного атопического процесса (дифференциальная диагностика аллергических и неаллергических (псевдоаллергических) заболеваний; уточнению причинно-значимого аллергена, особенно при сомнительных ре-

зультатах кожного тестирования; обоснование необходимости проведения аллергенспецифической иммунотерапии [АСИТ]);
- эффективности АСИТ (повышение уровня блокирующих «конкурирующих» IgG4, снижение уровня специфических IgE, недостаточный эффект АСИТ, назначенной по результатам кожных проб).

2

Современные лабораторные методы определения аллергенспецифических антител основаны на использовании как экстрактов аллергенов, так и их компонентов.

Совместное использование имеющихся методов лабораторного контроля концентрации специфических IgE в крови позволяет более точно определить показания к АСИТ и прогнозировать ее эффективность, а также назначить индивидуальные элиминационные диеты пациентам с перекрестной пищевой аллергией.

Преимущества лабораторной диагностики

- отсутствие возрастных ограничений, возможность проведения в самом раннем возрасте;
- применение у пациентов с высокой степенью сенсибилизации (системные реакции при кожном тестировании);
- малоинвазивное вмешательство, приемлемое для пациентов с отрицательным отношением к кожным пробам;
- достоверность выявления аллергена при несоответствии результатов кожных проб данным анамнеза и клинической картине;
- возможность выполнения исследования *in vitro* при приеме антигистаминных препаратов в период обострения основного заболевания;
- возможность обследования пациентов с резко измененной реактивностью кожи (ложноположительный или ложноотрицательный результат при кожном тестировании, а также у больных с положительным дермографизмом кожи);
- возможность выполнения исследования при состоянии декомпенсации сопутствующих хронических заболеваний;
- возможность выполнения исследования в период анергии после острой аллергической реакции;

- возможность срочного исследования широкого спектра аллергенов из одной пробы крови одновременно, что ограничено при постановке кожной пробы *in vivo* несколькими аллергенами;
- возможность исследования из одной пробы крови неограниченного количества аллергенов;
- отсутствие дополнительной сенсибилизации, риска анафилактических реакций, безопасность для пациента тестирования крови *in vitro*;
- возможность исследования пробы в любой территориально удаленной оснащенной лаборатории (тесты на расстоянии).

Дополнительные лабораторные исследования

- Определение эозинофильного катионного белка (ECP) (по показаниям). ECP — катионный белок с токсическими свойствами в отношении гельминтов и клеток организма. Проявляет бактерицидную активность, является продуктом активации эозинофилов. Его уровень коррелирует с уровнем эозинофилов. Информативность исследования ECP выше, чем абсолютное количество эозинофилов. Технические особенности: после отбора крови сыворотка должна быть получена не позднее чем через 1 ч, т. к. уровень ECP может быть искажен в связи с неспецифической дегрануляцией эозинофилов. Наиболее часто определение ECP используется для мониторинга аллергического воспаления в сочетании с постановкой провокационных проб (уровень в сыворотке практически здоровых пациентов составляет в среднем до 15 мкг/л).
- Базофильный тест (по показаниям) — метод диагностики специфической сенсибилизации организма, основанный на дегрануляции базофилов после добавления к ним специфического аллергена. Используется для изучения пыльцевой, лекарственной и пищевой аллергии. Базофильный тест получил признание как дополнительный тест для диагностики аллергических заболеваний и как метод выявления аллергических антител человека. Базофильные лейкоциты крови подобно тканевым тучным клеткам принимают участие в освобождении гистамина, гепарина, медленно реагирующих субстанций и серотонина. Считается, что реакция

дегрануляции базофилов крови свидетельствует о наличии реакции аллерген–антитело. Антитела, обусловливающие реакцию дегрануляции, имеют преимущественно реагиновую природу.

- Определение уровня лейкотриенов (C4, D4 E4 и др.) методом конкурентного иммуноферментного анализа (по показаниям). У пациентов с атопическими заболеваниями лейкотриены можно обнаружить на слизистой оболочке носа, что требует назначения блокаторов рецепторов лейкотриенов.

Лабораторные методы исследования при анафилаксии

Проведение лабораторных тестов для подтверждения анафилаксии (чаще имеет место при инсектной, лекарственной аллергии) целесообразно в определенное время после развития реакции:

- двукратное определение уровня сывороточной триптазы, для определения которой кровь собирается в интервале от 15 мин до 3 ч после возникновения первых симптомов анафилактической реакции (максимально — до 6 ч после начала развития реакции) и после прекращения реакции;
- для определения уровня сывороточного гистамина отбор крови должен осуществляться в течение 15–60 мин после возникновения первых симптомов.

Увеличение уровня концентрации гистамина и триптазы наиболее типично при развитии анафилаксии на фоне парентерального введения аллергена (лекарственных средств, инсектная аллергия).

Данные методы малоинформативны в случае пищевой анафилаксии.

Нормальные уровни гистамина и триптазы, определяемые в оптимальные сроки, не исключают диагноза анафилаксии.

Через 1,5–2 мес. после перенесенного эпизода анафилаксии показано обследование у врача аллерголога-иммунолога для определения возможной причины анафилактической реакции.

Лабораторная диагностика при крапивнице

Обследование при крапивнице показано для выявления причины заболевания, особенно в случае указания в анамнезе на провоцирующий фактор. Прежде всего показаны клинический анализ крови, СОЭ, СРБ, а также определение специфических IgE для исключения атопической природы заболевания. Назначаются также тесты для исключения инфекционных заболеваний (*H. Pylori*, паразитарных инвазий), атопии, гормонов щитовидной железы и антител к структурам щитовидной железы, тесты с лекарственными средствами, пищевые оральные, тесты с аутологичной сывороткой, триптаза, кожная биопсия, D-димер, антинуклеарные антитела, C3/C4 компоненты комплемента, белковые фракции.

3

Основные составляющие преаналитического этапа подготовки пробы к лабораторной аллергодиагностике

Преаналитический этап можно разделить на внелабораторный и лабораторный.

Факторы долабораторного преаналитического этапа, влияющие на пациента и результат анализа

Подготовка пациента к исследованиям — одна из важных составляющих долабораторной части преаналитического этапа. Врач должен обязательно объяснить пациенту необходимость лабораторных исследований и информировать его о том, как нужно подготовиться к исследованиям. Для этого практический врач должен четко представлять все последствия от воздействия биологических и ятрогенных факторов на организм человека и корректировать эти воздействия для правильной постановки диагноза. Именно врач формирует заявку с необходимым ему перечнем анализов, определяет условия подготовки к анализу пациента и указывает вид биологического материала для исследования (кровь, моча, кал, сперма и т. п.). На рис. 3 представлены основные факторы преаналитического этапа, воздействие которых на пациента должен учитывать врач.

Рис. 3. Основные факторы преаналитического этапа, влияющие на пациента и результат анализа

Факторы долабораторного преаналитического этапа, влияющие на анализ образца

Среди факторов, влияющих на анализ образца, можно выделить экзогенные и эндогенные (*см*. рис. 3). Важно отметить, что на качестве образца биоматериала пациента могут сказаться длительность транспортировки, тщательность обработки, воздействие температуры, т. е. факторы, связанные с долабораторным преаналитическим этапом. Большинство манипуляций с образцом биоматериала пациента выполняет средний медицинский персонал, т. е. практически на 80 % качество анализа образца зависит от подготовки персонала и соблю-

Рис. 4. Схема основных факторов преаналитического этапа клинико-лабораторных исследований, влияющих на анализ образца

дения стандартной операционной процедуры данного этапа в медицинской организации.

На рис. 4 более детально представлены основные факторы, влияющие на анализ образца.

Внелабораторный преаналитический этап регламентируется п. 2.2.2 «Описание преаналитического долабораторного этапа анализа» типовой модели «Руководства по качеству исследований в клинико-диагностической лаборатории» (Приказ МЗ РФ от 7 февраля 2000 г. № 45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации»). Положение об организации управления качеством клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения (приложение № 1 приказа) требует наличия инструкции (стандартных операционных процедур), утверждаемой главным врачом медицинской организации и согласованной с заведующим лабораторией, которая должна содержать правила подготовки обследуемых и взятия биологического материала с соблюдением установленных норм асептики и антисептики, способов и сроков его транспортировки, обеспечивающих сохранность проб и эпидемиологическую безопасность, которая должна включать определенный порядок процедур.

В соответствии с разрабатываемой инструкцией стоит остановиться на наиболее важных процедурах.

- Долабораторный преаналитический этап
  - назначение исследования лечащим врачом;
  - составление заявки на лабораторное исследование для пациентов и оформление бланка-направления;
  - подготовка пациента к исследованию;
  - процедура взятия и маркировки образца биоматериала для исследования;
  - хранение материала в отделении и его доставка в лабораторию.
- Внутрилабораторный преаналитический этап
  - регистрация и маркировка доставленного в лабораторию образца биоматериала;
  - обработка образца биоматериала, подготовка к исследованиям (центрифугирование, аликвотирование и маркировка, доставка биоматериала на рабочие места);
  - хранение емкости с материалом до исследования (при необходимости). Режим хранения отличается для различных биологических жидкостей и анализов.

3.1. Составление заявки на лабораторное исследование и оформление бланка-направления

Преаналитический этап начинается с назначения исследования врачом с последующим включением в направление необходимых лабораторных исследований.

Биологический материал пациента собирается медицинской сестрой в процедурном кабинете или пациентом в домашних условиях в соответствии с описанием врача в направлении.

Биологический материал пациента отправляется в лабораторию вместе с бланком-направлением, оформленным согласно требованиям. В направлении на исследование биоматериала в лаборатории должны быть указаны (либо представлены в штрихкоде, ID пациента) фамилия, имя, отчество, дата рождения пациента, отделение, медицинская организация (адрес), лечащий врач (опционально), предполагаемый диагноз (опционально), вид биологической жидкости (кровь, моча, отделяемое из дыхательных путей, соскоб, отделяемое из раны), дата и время взятия биоматериала.

Факторы, способные повлиять на результаты назначенного исследования, должны быть указаны в направлении для соблюдения пациентом режима подготовки к исследованию.

Направления и пробирки с биоматериалом должны быть идентично маркированы.

При сборе биоматериала обязательно учесть ограничения и особенности сбора биоматериала.

- Кровь после получения образца в пробирку необходимо перемешать с консервантом аккуратным переворачиванием 4–5 раз.
- Для исследования **ЕСР** сыворотка должна быть отделена от сгустка **не позднее чем через 1 ч** после отбора крови, т. к. уровень ЕСР может быть искажен в связи с неспецифической дегрануляцией эозинофилов.
- Двукратное определение уровня сывороточной **триптазы**, для определения которой кровь собирается в интервале от 15 мин до 3 ч после возникновения первых симптомов анафилактической реакции (**максимально — до 6 ч после начала развития реакции**) и после прекращения реакции.
- Для определения **уровня сывороточного гистамина** отбор крови должен осуществляться в течение 15–60 мин после возникновения первых симптомов.
- При **острой крапивнице** не рекомендовано проведение лабораторной диагностики.

- Тест активации базофилов требует завершения в течение 4 ч после получения ЭДТА стабилизированного образца крови. Образец ЭДТА стабилизированной крови должен храниться при **комнатной** температуре.
- Гематологический анализ крови рекомендуется выполнить в течение 4 ч после получения ЭДТА стабилизированного образца крови во избежание изменения морфологии клеток.
- Моча (разовая порция) должна быть собрана в одноразовую емкость, промаркированную (или штрихкодированную) с указанием фамилии, имени, отчества пациента и даты сбора. Не допускается хранение мочи до доставки в лабораторию при воздействии солнечных лучей и отопительных приборов. Образец мочи должен быть доставлен в лабораторию **в течение 2 ч** после сбора.

3.2. Подготовка пациента к исследованию

Для получения достоверных результатов анализов необходимо подготовить пациента к лабораторным исследованиям.

Брать кровь у пациента для исследований рекомендуется в ранние утренние часы после 12-часового ночного голодания (базовое состояние). Целый ряд факторов способен вызвать изменения в базовом состоянии пациента: диета, физические упражнения, эмоциональный стресс, суточные колебания некоторых показателей, положение тела при взятии крови, принимаемые пациентом лекарственные средства. Необходимо максимально стандартизировать условия взятия проб крови.

Общие правила для пациентов:

- утренние часы взятия проб крови на лабораторные исследования: 7.00–10.00;
- натощак, после 12-часового (пациентам детского возраста — 4-часового) перерыва в еде.

Кровь, как было сказано выше, может быть взята для различных исследований: от исследования концентрации компонентов сыворотки или плазмы до исследования активности клеток образца стабили-

зированной крови. Соответственно, различные лабораторные тесты имеют неодинаковую чувствительность к интерференции внешних факторов, времени взятия крови, режиму приема пищи до исследования.

3.3. Идентификация пациента

Необходимо убедиться, что взятие крови будет проведено у пациента, указанного в направлении. Для идентификации пациента специалисту, выполняющему взятие крови, необходимо попросить пациента сообщить фамилию, имя, отчество, дату рождения и сравнить полученную информацию с данными, указанными в направлении врача на исследование; для пациентов без сознания информация направления проверяется по данным истории болезни и паспорта.

3.4. Сбор и маркировка образца

Для лабораторных исследований и специфической аллергодиагностики венозная кровь с помощью вакуумной системы (рис. 5) собирается в пробирку с различными консервантами (в зависимости от теста).

Исследование сыворотки крови предполагает взятие крови в пробирки с активатором сгустка, химически нейтрального по отношению к содержимому сыворотки. Активатор сгустка призван ускорять формирование сгустка и последующий этап обработки образца.

В случае необходимости транспортировки образца в дистанционно удаленную лабораторию возможно использование пробирок

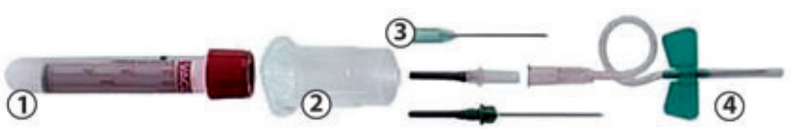


Рис. 5. Закрытая система взятия крови (пробирка): *1* — пробирка; *2* — держатель; *3* — игла; *4* — игла «бабочка» двухсторонняя

с активатором сгустка и разделительным гелем. Назначение разделительного геля, химически нейтрального вещества, заключается в отделении клеток сгустка и сыворотки после предварительного, перед отправкой пробы, центрифугирования. Стабильность образца сыворотки после центрифугирования у различных производителей систем взятия крови различна и может достигать 48 ч при соответствующем температурном режиме (информацию по каждой системе сбора крови необходимо получить у производителя).

Международная цветовая кодировка крышек пробирки отражает состав консерванта или его отсутствие в соответствии с ISO 6710 (рис. 6).

Цвет крышки указывает: фиолетовая — с наполнителем ЭДТА, красная — с активатором сгустка (разделительным гелем) для получения сыворотки, голубая — с цитратом для исследования гемостаза, зеленая — с гепарином, серая — со стабилизатором для исследования глюкозы, белая — без наполнителя (консерванта). Объем пробирки/системы взятия крови указан на этикетке пробирки. Объем наполнения пробирки кровью должен строго соответствовать объему пробирки для соблюдения правильного соотношения кровь/антикоагулянт. Для выполнения исследований достаточно в среднем от 5 до 7 мл крови в зависимости от гематокрита пациента. При высоком гематокрите может потребоваться больший объем отбираемой крови.

Рис. 6. Международная цветовая кодировка крышек пробирки

Непосредственно после взятия крови образец обязательно должен быть перемешан с консервантом. Не встряхивать! Пробирку необходимо плавно перевернуть 8–10 раз на 180° (рис. 7). Интенсивное встряхивание с образованием пены может вызвать гемолиз, тогда как недостаточное перемешивание ведет к образованию сгустков. Пробирки с видимыми сгустками крови для исследования не принимаются.

При взятии крови из катетера, установленного пациенту для инфузии, необходимо перекрыть инфузию лекарственного вещества, отобрать и удалить первые 3–5 мл крови с помощью шприца или пустой пробирки. Кровь для исследования собирается в последующую пробирку с пометкой в направлении, указывающей на получение пациентом внутривенной инфузии лекарственного препарата (указать препарат).

Сбор всех видов биологического материала для исследований должен осуществляться с соблюдением правил санитарно-эпидемиологического режима в соответствии с действующими нормативными документами Роспотребнадзора и инструкциями, утвержденными главным врачом медицинской организации, с целью защиты пациента и медицинского персонала от инфицирования.

Биологический материал для исследований должен быть собран в соответствии с видом исследования и методикой исследования (сообщается лабораторией).

Рис. 7. Перемешивание пробы крови

Все пробирки с биоматериалом должны быть стандартно промаркированы в соответствии с правилами медицинской организации или принимающей лаборатории. Маркировка должна быть устойчива к механическим и другим видам повреждений и полностью соответствовать содержанию пунктов бланка-направления. Штрихкодирование дополняет, но не заменяет маркировку пробирки и направления.

Биоматериал в пробирках, маркировка которых не соответствует требованиям, лабораторией к исследованиям не принимается.

3.5. Хранение материала и его доставка в лабораторию

Биологический материал должен быть доставлен в лабораторию медицинской организации не позднее 1 ч после получения.

В случае транспортировки в удаленно расположенную лабораторию пробирки для получения сыворотки должны быть с разделительным гелем. Предварительно, перед транспортировкой, пробы должны быть центрифугированы в соответствующем режиме центрифугирования, допустимом для последующего исследования образца. Условия центрифугирования необходимо уточнить в принимающей лаборатории.

Транспортировка должна осуществляться только в специальных маркированных небьющихся контейнерах. Маркированные образцы доставляются вместе с оформленными по правилам направлениями.

При невозможности доставки образца в удаленно расположенную лабораторию в течение 1 ч (кровь взята в ночное время, выходные и праздничные дни и т. д.) образец необходимо хранить при температуре, соответствующей технологии исследования, **но всегда** в холодильнике при 2–8 °С. Срок хранения материала до исследования не должен превышать 24 ч (для отдельных тестов — 4 ч).

4

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.

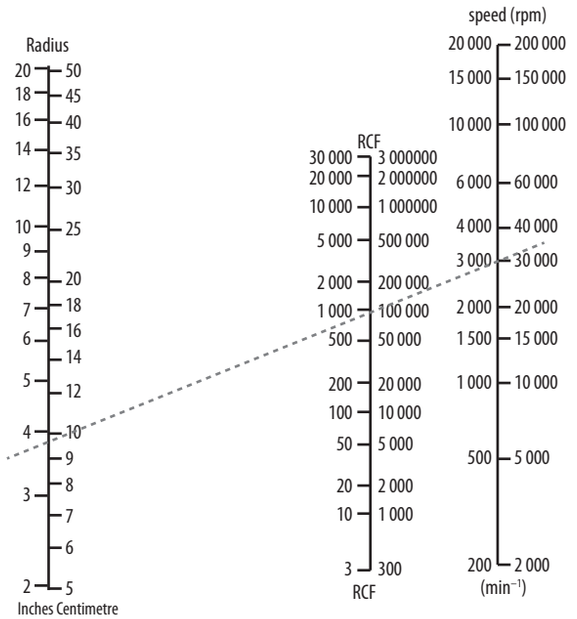
4.2. Подготовка образцов к исследованию

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 «распашного» 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 особенности 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 вариабельности 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 направительном 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) сенсибилизация 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 цитофильностью 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. Сенсибилизация 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 атопическом 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 ужалила 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 повышения 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 атопических заболеваний у пациентки и ее ближайших родственников выявлено не было. Среди перенесенных оперативных вмешательств отмечает несколько операций по поводу рефлюкса мочеточника, 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, кининазу, 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.: E-noto, 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.