



СТАНДАРТНІ ОПЕРАЦІЙНІ ПРОЦЕДУРИ¹

Стандарти різного рівня встановлюють критерії та індикатори, що забезпечують якість проведення робочих процесів в лабораторіях і відповідають на запитання — **що потрібно робити правильно**. Однак стандарти не відповідають на питання забезпечення якості — **як потрібно робити правильно, коли, де і кому**. На ці запитання відповідають документи іншого рівня й іншої структури й їх прийнято називати Стандартними операційними процедурами (СОП). Розробляються і застосовуються вони безпосередньо в лабораторії.

Стандартні операційні (робочі) процедури (СОП/SOP/Standard Operation Procedures) — це документально оформлений набір інструкцій або покрокових дій, які треба здійснити для виконання певного виду робіт.

СОП роблять процес роботи і його результати послідовними, узгодженими, передбачуваними і відтворюваними. Безсумнівними перевагами, що досягаються при застосуванні СОП, є чіткий розподіл завдань відповідно до компетенції, забезпечення якості та логічної послідовності дій. СОП корисні для навчання нового персоналу, слугують у якості довідника для перевірки на відповідність, дають можливість персоналу чітко працювати за відсутності керівництва.

СОП — це документ, у якому записані всі процедури, що застосовуються в лабораторії, й відображена його політика.

Фактично кожна СОП повинна містити відповіді на 3 питання.

1. **«Хто?»** (бере участь у реалізації СОП, виконує її вимоги) і **«Що?»** (які ресурси необхідні для реалізації СОП).

2. **«Де?»** (в якому підрозділі, відділенні, лабораторії (організації) слід виконувати вимоги СОП).

3. **«Коли?»** (в який часовий проміжок необхідно вкласти, виконуючи вимоги СОП, в якій послідовності і за яких обставин).

Загалом СОП повинні бути короткими, чіткими, конкретними, бажано їх подавати в табличній формі або у вигляді схем і алгоритмів з мінімальним обсягом текстової частини. Також СОП застосовуються в установах з впровадженою системою менеджменту якості за міжнародними стандартами ISO 9001:2008.

Формування і повсюдне використання ясних, чітких, правильно і детально складених, що відповідають сучасному розвитку бізнесу, Стандартних операційних процедур може стати гарантією чіткої роботи, логічної послідовності дій і одним із дієвих елементів системи управління якістю виробництва (надання послуг).

¹ [Електронний ресурс]. — Режим доступу : <http://15189.ru>.





6

Розробка стандартних операційних процедур

З метою підвищення достовірності результатів досліджень, що виконуються медичними лабораторіями, для мінімізації ризиків і помилок на переданалітичному, аналітичному і післяаналітичному етапах роботи лабораторій необхідно систематично проводити стандартизацію операцій і процесів в рамках конкретної лабораторії (методичні роз'яснення щодо стандартизації дивіться у додатку №1).

Для стандартизації робіт у лабораторіях необхідно провести аналіз всіх основних операцій і процесів, після чого скласти стандартні операційні процедури (СОП) з них.

Рекомендований перелік СОП для різних етапів.**1. Переданалітичний етап за межами лабораторії.**

- 1.1. Заповнення бланка-запиту на дослідження клініцистами.
- 1.2. Первинна реєстрація пацієнта.
- 1.3. Контроль дотримання пацієнтом правил підготовки до здачі біоматеріалу.
- 1.4. Збір біоматеріалу (за видами досліджень та типами біоматеріалу).
- 1.5. Правила первинного маркування біоматеріалу, заповнення супровідної документації, первинної обробки даних про пацієнта та внесення даних до інформаційної системи.
- 1.6. Правила транспортування біоматеріалу.

Керівники закладу охорони здоров'я, в якому діє лабораторія, повинні проаналізувати і затвердити СОП 1.1–1.6 спільно з керівниками медичних та діагностичних підрозділів.

2. Переданалітичний етап в межах лабораторії.

- 2.1. Прийом, реєстрація і контроль якості біоматеріалу лабораторією.
- 2.2. Правила маркування біоматеріалу.
- 2.3. Внесення даних про пацієнта і біоматеріал до лабораторної інформаційної системи (ЛІС).
- 2.4. Дії співробітників при виявленні браку біоматеріалу.
- 2.5. Дії співробітників при необхідності використовувати одну пробірку з біоматеріалом для декількох видів досліджень.
- 2.6. Пробопідготовка і контроль якості біоматеріалу (за видами досліджень та типами біоматеріалу).

СОП 2.1–2.6 затверджує завідувача лабораторією.

3. Аналітичний етап.

- 3.1. СОП за всіма «ручними методами» і методами, де використовується багато «ручної праці» та/або роботи експертів (приклад – мікроскопія).



Референс-лабораторія діагностики ВІЛ-інфекції/СНІДу з відділами імунології ВІЛ-інфекції, вірусології ВІЛ-інфекції, серології ВІЛ-інфекції Державної установи «Український центр контролю за соціально небезпечними хворобами Міністерства охорони здоров'я України»
Документ No: Реф/Лаб.СОП.ББ.000* ... 2015 • Версія 1



3.2. СОП за аналітичними методами, де застосовуються стандартні інструкції виробника.

3.3. Правила проведення внутрішньолабораторного контролю якості (за видами досліджень).

3.4. Правила оцінки даних, отриманих в ході внутрішньолабораторного контролю якості (за видами досліджень).

3.5. Правила калібрування обладнання (з прив'язкою до приладів).

3.6. Операційні інструкції роботи з обладнанням (з прив'язкою до приладів).

3.7. Правила проведення зовнішньої оцінки якості та оцінки даних із зовнішньої оцінки якості.

3.8. Правила роботи з лабораторними інформаційними системами.

3.9. Організація міжлабораторних порівнянь.

3.10. Проведення верифікації та ре-верифікації аналізаторів.

3.11. Проведення верифікації та ре-верифікації методик досліджень.

3.12. Управління ризиками, включаючи біоризик.

3.13. Правила розрахунку невизначеності результатів досліджень.

3.14. Правила розрахунку загальної помилки.

3.15. Правила гармонізації даних, отриманих в одній лабораторії для одного пацієнта, однієї біологічної проби, одного аналізу на різних аналізаторах та / або різними методами.

СОП 3.1 – 3.15 затверджує завідувача лабораторією.

4. Післяаналітичний етап.

4.1. Правила оформлення, верифікації та затвердження даних протоколу досліджень.

4.2. Правила видачі інформації пацієнту або клініцисту.

4.3. Правила пересилання інформації електронними засобами зв'язку.

4.4. Правила інформування одержувача про всі значущі фактори проведення дослідження (приклади: відсутність інформації про дотримання/недотримання пацієнтом умов підготовки до здачі біоматеріалу; різні не критичні дані за якістю біоматеріалу і т. ін.).

4.5. Правила взаємодії з клініцистами щодо інтерпретації даних.

4.6. Правила реагування на претензії користувачів.

СОП 4.1–4.6 затверджує Головний лікар закладу охорони здоров'я.

5. Додаткові СОП.

5.1. Правила зберігання реагентів.

5.2. Правила зберігання біоматеріалів.

5.3. Технічне обслуговування обладнання.

5.4. СОП з управління персоналом.





8

СОП 5.1–5.4 затверджуються у відповідності до процедур документообігу конкретної установи охорони здоров'я.

У кожній конкретній лабораторії можуть бути розроблені додаткові СОП.

У лабораторії також повинен бути створений документ, що регламентує правила створення СОП. Методичні рекомендації щодо створення таких правил дивіться у додатку №2.



**Додаток №1. Методичні роз'яснення щодо стандартизації**

9

Стандартизація є основою системи менеджменту якості медичної лабораторії.

Під стандартизацією розуміють набір внутрішніх правил, що регламентують процеси і процедури лабораторії.

Оскільки діяльність медичних лабораторій має ідентичні процеси, процедури, методи контролю і забезпечення їх якості, внутрішні правила багатьох медичних лабораторій будуть схожі.

Тим не менш є очевидним, що кожна медична лабораторія по-своєму унікальна. Ця унікальність обумовлена, у тому числі, доступністю ресурсів (наприклад: кваліфікацією кадрів, укомплектованістю штату, устаткуванням, приміщенням, витратними матеріалами, що застосовуються для системи оцінки і контролю якості, місцем розташування, підпорядкованістю тощо); асортиментом досліджень, що здійснюються; ступенем централізації і т. ін. Тому внутрішні правила і регламенти кожної лабораторії будуть мати відмінності.

Мета стандартизації – підвищити ймовірність досягнення високої достовірності лабораторних досліджень у лабораторії.

Підсумком робіт із стандартизації діяльності лабораторії буде набір документально оформлених правил за всіма основними і допоміжними процесами й процедурами.

Стандартизація повинна відбуватися за наступною схемою.

1. Виявлення основних і допоміжних процесів лабораторії.
2. Вичленення у кожному процесі критично важливих процедур.
3. Виявлення проблемних зон, ризиків, браку (помилки) в рамках даних процесів.
4. Виявлення та усунення причин виявлених проблем і т. ін. (див.п.3).
5. Прийняття рішень щодо того, як у найкращий спосіб виконати даний процес/процедуру для досягнення найкращого результату при мінімальній витраті ресурсів.
6. Фіксація у вигляді регламенту процесу або стандартної операційної процедури на паперовому чи електронному носії.
7. Постійний аналіз результатів процесів і процедур та пошук можливостей їх покращення.

Усім відомий цикл PDCA – планує, роби, перевіряй, впливай, відомий також як цикл Демінга, що широко використовується в ідеології систем менеджменту якості (стандарти серії ISO 9000).

Але ПЕРЕД цим циклом корисно провести інший цикл – SDCA – стандартизує, роби, перевіряй, впливай.

Аналіз робіт, що виконуються лабораторією.

1. Виявлення систематичних і випадкових помилок.
2. Пошук причин виникнення помилок.
3. Розробка шляхів усунення причин виникнення помилок.
4. Розробка алгоритму дій у типовій ситуації.



5. Розробка алгоритмів дій при виникненні проблем.
6. Розподіл відповідальності і повноважень.
7. Аналіз потреб у ресурсах.
8. Аналіз впливу на суміжні процеси й операції.
9. Навчання співробітників.
10. Контроль.
11. Покращення.

Нижче наведемо приблизний перелік процесів у медичній лабораторії.

Таблиця 1. Орієнтовний перелік процесів у медичній лабораторії.

№ з/п	Процес	Процедури	Документація	Критерії результативності процесу
Основні процеси				
1	Переданалітика		Керівництво з переданалітики перед аналітики	1. Кількість бракованих пробірок до загальної кількості пробірок. 2. Кількість невірно призначених аналізів. 3. Кількість невірно заповнених бланків. 4. Кількість зіпсованих проб.
1.1.		Взаємодія з клініцистами.		
1.1.1.		Сумісна розробка бланку-направлення.		
1.1.2.		Семінари з нових методів.		
1.2.		Забір та передача біоматеріалу в лабораторію.		
1.2.1.		Прийом пацієнта.		
1.2.2.		Контроль виконання пацієнтом правил підготовки до дослідження.		
1.2.3.		Заповнення необхідних журналів реєстрації.		



Референс-лабораторія діагностики ВІЛ-інфекції/СНІДу з відділами імунології ВІЛ-інфекції, вірусології ВІЛ-інфекції, серології ВІЛ-інфекції Державної установи «Український центр контролю за соціально небезпечними хворобами Міністерства охорони здоров'я України»
Документ No: РефЛаб.СОП.ББ.000* ... 2015 • Версія 1



№ з/п	Процес	Процедури	Документація	Критерії результативності процесу
1.2.4.		Заповнення бланку направлення.		
1.2.5.		Забір матеріалу та маркування біопроби.		
1.2.6.		Передача біоматеріалу в лабораторію – етап транспортування з дотриманням умов зберігання.		
1.3.		Контроль пунктів забору біоматеріалу за межами лабораторії.		
1.4.		Прийом, реєстрація, внесення даних в інформаційну систему і розподіл біоматеріалу.		
2	Аналітика			1. Результати внутрішньо-лабораторного контролю якості (ВЛКЯ). 2. Результати зовнішньої оцінки якості (ЗОЯ)
2.1.		Відповідність до видів досліджень.	СОП на дослідження.	
2.2.		Керування медичним обладнанням.	Рекомендації з керування обладнанням.	
2.3.		Внутрішньо-лабораторний контроль якості.	Керівництво з проведення ВЛКЯ.	
2.4.		Зовнішня оцінка якості.	Процедура проведення ЗОЯ.	



№ з/п	Процес	Процедури	Документація	Критерії результативності процесу
2.5.		Керування виробничим середовищем, у тому числі – зберігання реагентів.		
2.6.		Керування лабораторною інформаційною системою (ЛІС).	Керівництво з роботи з ЛІС.	
2.7.		Керування записами за видами досліджень.		
3	Післяаналітика.		Керівництво з післяаналітичного етапу.	1. Кількість помилок в бланках. 2. Кількість помилок клініцистів, що були допущені з вини лабораторії.
Допоміжні процеси				
5	Управління персоналом.	Управління кадрами.	Кількість співробітників, які проходять атестацію, до загальної кількості співробітників.	
6	Управління виробничим середовищем.		Кількість годин простою лабораторії через проблеми з виробничим середовищем.	
7	Закупки.		Кількість годин простою лабораторії через проблеми з продукцією, що закуповується.	
8	Управління допоміжним обладнанням.		Кількість годин простою лабораторії через проблеми з обладнанням.	
Планування, аналіз та поліпшення				
9	Планування.		Наявність необхідних планів у потрібний час.	



Референс-лабораторія діагностики ВІЛ-інфекції/СНІДу з відділами імунології ВІЛ-інфекції, вірусології ВІЛ-інфекції, серології ВІЛ-інфекції Державної установи «Український центр контролю за соціально небезпечними хворобами Міністерства охорони здоров'я України»
Документ No: РефЛаб.СОП.ББ.000- ... 2015 • Версія 1



Вступ

№ з/п	Процес	Процедури	Документація	Критерії результативності процесу
10	Аналіз з боку керівництва.		Повнота і терміни здійснення досліджень.	
11	Внутрішні аудити.	Внутрішні аудити.	Кількість критичних невідповідностей до загальної кількості невідповідностей.	
12	Коригуючі та попереджувальні дії.	Коригуючі та попереджувальні дії.	Кількість повторів невідповідностей до загального числа невідповідностей.	
13	Зворотній зв'язок від пацієнтів, клініцистів та співробітників.		1. Індекс задоволеності. 2. Повтори виявлених проблем.	
14	Аналіз медико-економічних показників діяльності лабораторії.		Виявлення зон зниження витрат.	
15	Поліпшення.			

13



**Додаток №2. Методичні рекомендації
щодо створення стандартних операційних процедур (СОП)****1. Загальні положення.**

1.1. Стандартні операційні процедури (СОП) є основним типом робочих документів системи менеджменту якості (СМЯ) лабораторії.

1.2. СОП містять інформацію про конкретику роботи, що виконується.

1.3. СОП розробляються для кожної ключової операції в рамках реалізації основних, допоміжних і управлінських процесів лабораторії.

1.4. СОП створюються найбільш кваліфікованим у даній галузі персоналом лабораторії.

1.5. СОП узгоджуються за принципом досягнення якості тими співробітникам, які будуть користуватися результатами робіт, що виконуються за СОП.

1.6. СОП узгоджуються відповідальним за СМЯ лабораторії.

1.7. СОП лабораторних підрозділів узгоджуються із завідувачем лабораторій, до яких відноситься підрозділ.

1.8. СОП актуалізуються не рідше одного разу на три роки. Основні СОП актуалізуються раз на рік.

1.9. СОП лабораторних підрозділів створюються з урахуванням принципів правильної лабораторної практики.

1.10. У вигляді СОП оформлюється будь-який документ, що детально регламентує виконання конкретних робіт, операцій, процедур. Тобто синонімом СОП є інструкція, робоча інструкція і т. ін. Винятком є інструкції з техніки безпеки і охорони праці, які створюються і оформлюються у відповідності до чинного законодавства України.

1.11. Інститут клінічних та лабораторних стандартів (CLSI, США), рекомендує наступний формат для оформлення СОП:

- створюється в Microsoft Word;
- кегль Times New Roman 12-го розміру і відстанню 1 між рядками;
- контрольний номер документа ставиться на титульному аркуші і на кожній сторінці у верхньому/нижньому колонтитулі зліва;
- титульний аркуш містить назву організації та її логотип.

2. Загальна схема створення СОП.

2.1. Наказ про створення СОП в усній або письмовій формі віддає виконавцю завідувач лабораторією.

2.2. Співробітники на свій розсуд можуть створити і запропонувати на розгляд нові СОП завідувачі лабораторією.

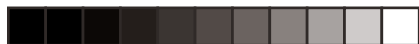
2.3. Первинний перелік СОП створюється на основі аналізу основних, допоміжних і управлінських процесів лабораторії.

2.4. Далі СОП створюються в міру необхідності у ході:

- виявлення невідповідностей, причини яких лежать в недостатній стандартизації процедур, що виконуються, і відсутності письмової інструкції;



Референс-лабораторія діагностики ВІЛ-інфекції/СНІДу з відділами імунології ВІЛ-інфекції, вірусології ВІЛ-інфекції, серології ВІЛ-інфекції Державної установи «Український центр контролю за соціально небезпечними хворобами Міністерства охорони здоров'я України»
Документ No: РефЛаб.СОП.ББ.000- ... 2015 - Версія 1



Вступ

15

- виявлення зони ризику, де відсутність письмової інструкції може призвести до невідповідності;
- присвоєння буквено-цифрового ідентифікатора СОП.

У лабораторії документи ідентифікуються по сферамі застосування:

- 1) Ддокументи по з менеджменту якості – СОП-МЯ-001, СОП-МЯ-002 і т. ін.;
- 2) СОП технічні або з лабораторних методів – СОП-ЛМ-001, СОП-ЛМ-002 і т. ін.;
- 3) СОП з безпеки – СОП-ББ-001, СОП-ББ-002 і т. ін.;
- 4) СОП загального напрямку – СОП-ЗН-001, СОП-ЗН-002 і т. ін.;
- 5) формуляри – Ф-001, Ф-002 і т. д.

4. Титульна сторінка СОП повинна містити наступну інформацію.

- 4.1. Назва СОП.
- 4.2. Ідентифікатор (код) СОП.
- 4.3. ПІБ та посада розробника СОП.
- 4.4. ПІБ та посада особи, яка затвердила СОП.
- 4.5. ПІБ та посада співробітників, що погоджували СОП (якщо є).
- 4.6. Дата розробки СОП.
- 4.7. Дата затвердження/введення в дію СОП.
- 4.8. Підписи всіх зазначених осіб.
- 4.9. Печатка установи.
- 4.10. Лист розсилки.

Нижче представлений приклад титульного листа СОП установи.

Стандартна операційна процедура			
Здійснення досліджень з визначення абсолютної кількості CD4 лімфоцитів з використанням портативного цитометру Alere™Pima™		Документ №:	
		СОП-РЛ-ЛМ-001	
		Діє з:2015	
Сфера: Лабораторний метод Версія 1 Кількість сторінок: XX		Перегляд:	
		Період ревізії: 2 роки	
		Попередня версія: НЕМАЄ	
	Підготовлено	Перевірено	Затверджено
Підпис:			
Ім'я:			
Посада:			
Дата:			



**5. Стандартна операційна процедура повинна містити наступні дані.****5.1. ПЕРЕГЛЯД.**

№ ревізії	Причина ревізії	Дата ревізії		
1.				
2.				
3.				
5.2. ПОПРАВКИ.				
№ з/п	Дата	Стор. №	Поправка	Підтверджена
1.				
2.				
3.				
- Поправка повинна бути підтверджена керівництвом лабораторії. - Поправка повинна бути підкреслена та виділена зірочкою. - До повної ревізії може бути внесено до 10 невеликих поправок. - Глобальні зміни в СОП потребують негайної ревізії.				

5.3. ПІДПИС ПЕРСОНАЛУ.

Підписуючи цю сторінку, персонал закладу охорони здоров'я підтверджує, що він ознайомився з СОП та зобов'язується виконувати описану процедуру належним чином.

ПІБ	Посада	Дата	Підпис

5.4. Кожна сторінка СОП повинна починатись колонтитулом, який містить інформацію про заклад, в якому вона зберігається, номер версії документа, дату розробки (перегляду) СОП, кількість сторінок, назву СОП, а також ідентифікаційний номер документа. Нижче наведений приклад заповнення верхнього колонтитулу.

Назва закладу	Версія 1.0	Дата	Кількість сторінок: XX. Сторінка X з XX.	Назва: Здійснення досліджень з визначення абсолютної кількості CD4 лімфоцитів з використанням портативного цитометру Alere™ Pima™	ІН документа
---------------	------------	------	--	---	--------------

5.5. Кожна сторінка СОП може закінчуватись нижнім колонтитулом, який містить інформацію про лабораторію і відділ, де застосовується дана





СОП, порядковий номер документа. Нижче наведений приклад заповнення нижнього колонтитулу:

*Найменування лабораторії та відділу
Документ №СОП-ЛМ-001*

5.6. Кожен розділ СОП має починатись з нової сторінки.

6. Стандартна операційна процедура повинна містити наступні розділи.

6.1. Зміст.

6.2. Призначення і сфера застосування. У розділі необхідно вказати в загальному вигляді мету СОП, підрозділи (процеси/співробітники тощо), для яких даний СОП є обов'язковим для застосування.

6.3. Нормативні посилання.

У розділі необхідно вказати всі нормативні документи, які були використані при створенні СОП, у тому числі закони України, технічні регламенти, документи зі стандартизації, відомчі документи, накази, розпорядження тощо.

Важливо, що якщо СОП створюється без використання зовнішніх нормативних документів, то лабораторія буде зобов'язана доводити його відповідність законодавчим вимогам.

6.4. Терміни та визначення.

У розділі необхідно вказати спеціальні терміни, які були використані в СОП, і дати їх визначення.

6.5. Скорочення.

У розділі необхідно розшифрувати всі скорочення й аббревіатури, використані в СОП.

6.6. Обладнання/інструменти і матеріали.

У розділі необхідно вказати, яке обладнання/інструменти необхідне для виконання СОП. Крім простого перерахування, рекомендується зазначити технічні й інші вимоги до вживаного обладнання/інструменту

6.7. Вимоги до умов навколишнього середовища.

У розділі необхідно вказати параметри навколишнього середовища, необхідні для правильного виконання робіт.

6.8. Перелік записів.

У розділі необхідно вказати записи, які повинні створюватися в процесі реалізації СОП. У додатку до СОП корисно навести форми записів і правила їх ведення.

6.9. Відповідальність.

У розділі необхідно вказати відповідальних за виконання робіт.

6.10. Кваліфікація виконавців.

У розділі необхідно вказати вимоги до кваліфікації персоналу, допущеного до роботи за СОП.

6.11. Процедура виконання.



У розділі необхідно детально описати послідовність кроків для реалізації роботи. В рамках процедури необхідно відобразити як загальні вимоги для медичних лабораторій, так і унікальні для даної лабораторії.

6.12. Дії при виявленні невідповідностей.

У розділі необхідно вказати правила поведінки персоналу при виявленні невідповідностей, збоїв і т. ін.

6.13. Додатки.

7. Розробка буквено-цифрового коду.

Кожен документ корисно позначати унікальним буквено-цифровим кодом.

Наводимо приклад кодування стандартної операційної процедури:

XXX-YYY-CCC-ZZ-GGGG, де:

XXX – скорочена назва документа;

YYY – код відділення;

CCC – код підрозділу всередині відділу (якщо є);

ZZ – порядковий номер усередині відділу;

GGGG – рік актуалізації.

СОП-РЛ-01-ЛМ-001-2015 «Здійснення досліджень з визначення абсолютної кількості CD4 лімфоцитів з використанням портативного цитометру Alere™ Pima™».

Стандартна операційна процедура референс-лабораторії відділу імунології ВІЛ-інфекції з лабораторних методів №001 від 2015 року «Здійснення досліджень з визначення абсолютної кількості CD4 лімфоцитів з використанням портативного цитометру Alere™ Pima™».

8. Ведення реєстру внутрішніх документів.

Необхідно вести реєстр СОП.

В ідеалі, в лабораторії повинна бути встановлена система електронного документообігу, інтегрована з ЛІС.

Якщо цього немає, реєстр можна вести в Excel або в будь-якій аналогічній програмі за нижчезазначеною формою.

№ з/п	Вид документа	Найменування документа	Ідентифікатор	Розробник	Дата введення	№ перегляду (№ версії)	Дата перегляду	Місце зберігання (№ кімнати)
1	СОП	Здійснення досліджень з визначення абсолютної кількості CD4 лімфоцитів з використанням портативного цитометру Alere™ Pima™	СОП-РЛ-01-ЛМ-001-2015	ХХ	30.01.2015	1	немає	4



Референс-лабораторія діагностики ВІЛ-інфекції/СНІДу з відділами імунології ВІЛ-інфекції, вірусології ВІЛ-інфекції, серології ВІЛ-інфекції Державної установи «Український центр контролю за соціально небезпечними хворобами Міністерства охорони здоров'я України»
Документ No: Реф.Лаб.СОП.ББ.000... 2015 • Версія 1



9. Навчання співробітників роботі з СОП.

19

Основну помилку, яку допускають лабораторії, можна описати наступним чином. Витрачається багато зусиль на написання СОП, після чого вони складаються в красиву папку на стіл завідуючої (іноді СОП «доходять» до робочих місць співробітників, і навіть на них з'являються підписи, що співробітники з ними «ознайомлені»). При цьому не приділяється серйозної уваги навчанню роботи з СОП. А це становить 90% всієї роботи з СОП.

Розробити й написати СОП недостатньо. Важливо навчити співробітників працювати з ними.

Навчання персоналу розробленим (новим) і модифікованим СОП проводиться перед їх затвердженням. Навчання проводиться розробником СОП.

Якщо СОП описує нову процедуру або якщо в існуючу процедуру вносяться зміни, навчання проводиться для отримання об'єктивної оцінки можливості застосування вимог СОП відповідно до існуючої практики. Навчання проводиться для тих співробітників, в чій посадові обов'язки входить виконання дій, описаних в СОП. Період навчання залежить від типу СОП. Організація навчання проводиться розробником СОП і по завершенні первинної перевірки СОП – завідувачем лабораторії протягом 3-5 робочих днів. За підсумками навчання виносяться рекомендації щодо оптимізації процесів та/або тексту СОП (якщо такі є), які розробник коригує і вносить до фінального варіанту СОП.

Якщо СОП просто описує відому і добре налагоджену роботу, то навчання проводиться для нових співробітників, які прийшли працювати в лабораторію.

Ведеться журнал навчання, де вказано, які співробітники пройшли навчання по з конкретному СОП і допущені до роботи.





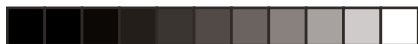
Вступ

20



Референс-лабораторія діагностики ВІЛ-інфекції/СНІДу з відділами імунології ВІЛ-інфекції,
вірусології ВІЛ-інфекції, серології ВІЛ-інфекції Державної установи «Український центр контролю
за соціально небезпечними хворобами Міністерства охорони здоров'я України»
Документ No: РефЛаб.СОП.ББ.000• ... 2015 • Версія 1





ПОРЯДОК ОЦІНКИ ТОЧНОСТІ І ПРАВИЛЬНОСТІ АВТОМАТИЧНИХ ПІПЕТОК

Стандартна операційна процедура				
Порядок оцінки точності і правильності автоматичних піпеток		Документ №		
		СОП-РЛ-ЗН-000		
		Діє з2015		
Сфера: Загальний напрямок Версія 1		Перегляд:		
		Період ревізії: 2 роки		
		Попередня версія: НЕМАЄ		
	Підготовлено	Перевірено	Затверджено	
Підпис:				
Ім'я		ПІБ	ПІБ	
Посада		Завідувач лабораторії	Керівник закладу охорони здоров'я	
Дата				

ПЕРЕГЛЯД

№ ревізії	Причина ревізії	Дата ревізії
1		
2		

ПОПРАВКИ

Номер	Дата	Стор. №	Поправка	Підтверджена
1.				
2.				
3.				
- Поправка повинна бути підтверджена керівництвом лабораторії. - Поправка повинна бути підкреслена і виділена зірочкою. - До повної ревізії може бути внесено до 10 невеликих поправок. - Глобальні зміни в СОП потребують негайної ревізії.				





22

ПІДПИС ПЕРСОНАЛА

Підписуючи цю сторінку, персонал закладу охорони здоров'я підтверджує, що він ознайомився з СОП і зобов'язується виконувати описану процедуру належним чином.

ПІБ	Посада	Дата	Підпис

№ з/п	ЗМІСТ	Сторінка
1	Мета	23
2	Відповідальність	23
3	Навчання персоналу	23
4	Визначення	23
5	Процедура перевірки автоматичних піпеток	23
6	Періодичність.	23
7	Тип піпеток	24
8	Матеріали	24
9	Методика (спрощена)	24
10	Обчислення	24
11	Формуляр для калібрування піпеток	25
12	Таблиця 1 для визначення фактора Wt	26





1. Мета

У цьому документі описані інструкції, пов'язані з підтвердженням точності дозування автоматичної піпетки, що використовується для здійснення лабораторних досліджень. Описані в документі процедури застосовуються для автоматичних піпеток різних виробників і є універсальними.

2. Відповідальність

Весь персонал, задіяний у процедурі здійснення лабораторних досліджень, несе персональну відповідальність за виконання даної СОП.

3. Навчання персоналу

До початку використання автоматичних піпеток необхідно:

- провести навчання персоналу роботі на приладі й перевірити компетентність у здійсненні досліджень з використанням автоматичної піпетки, що використовується для здійснення лабораторних досліджень, у кожного виконавця;
- провести інструктаж з техніки безпеки при роботі з приладом;
- вести документацію відповідно до затверджених форм з питань техніки безпеки і навчань персоналу.

4. Визначення

Точність. Близькість об'єму, що вимірюється, до істинного об'єму, визначеного виробником автоматичної піпетки. Відома також як визначення "середньої помилки".

Калібрування. Точне регулювання довжини ходу поршня для автоматичних піпеток.

Гравіметричний аналіз. Загальна процедура, заснована на визначенні ваги проб води при застосуванні піпетки. Значення коригуються з урахуванням випаровування, тобто справжня маса і об'єми розраховуються одночасно, ґрунтуючись на знанні щільності води при певній температурі (Wt-фактор).

Точність. Близькість результатів між окремими зважуваннями. Також відома як стандартне відхилення, відтворюваність і повторюваність.

Попередня промивка. Подвійне змочування наконечника піпетки рідиною при проведенні зважування. Повторіть процедуру, коли застосовується новий наконечник або якщо процедуру зважування було перервано.

Wt-фактор. Коефіцієнт перерахунку (мкл/мг), що включає щільність води при визначених показниках температури і тиску.

5. Процедура перевірки автоматичних піпеток

1. Періодичність.

Піпетки повинні перевірятися 1 раз на півроку або кожного разу, коли якість проведених досліджень є незадовільною.



2. Тип піпеток.

Піпетки з фіксованим обсягом калібруються відповідно до заданого об'єму.

Піпетки з регульованим об'ємом калібруються за двома точками: за мінімальним та максимальним об'ємами піпетки. Наприклад, щоб оцінити стан піпетки об'ємом 20-200 мкл, необхідно встановити, наскільки точно вона «набирає» 20 мкл і наскільки точно вона «набирає» 200 мкл.

3. Матеріали.

- Ваги аналітичні.
- Термометр.
- Вода дистильована.
- Нові чисті наконечники.
- Чисті пеніцилінові флакони.
- Протоколи калібрування.

4. Методика (спрощена).

- 4.1. Виміряйте температуру води, визначте по таблиці 1 коефіцієнт мас.
- Занесіть дані у формуляр. Перевіряйте температуру води кожні 2 години.
- 4.2. Відзначте у формулярі об'єм і номер піпетки.
- 4.3. Поставте пеніциліновий флакон на ваги, урівняйте ваги.
- 4.4. Якщо піпетка з регульованим об'ємом, то встановіть мінімальне значення об'єму.
- 4.5. Наберіть воду піпеткою і злийте її у флакон, що стоїть на вагах.
- 4.6. Відзначте вагу в формулярі.
- 4.7. Урівняйте ваги.
- 4.8. Знову наберіть воду і виміряйте її вагу.
- 4.9. Загальна кількість вимірювань — 10 разів.
- 4.10. Якщо піпетка з регульованим об'ємом, то встановіть максимальне значення об'єму і повторіть процедуру.

5. Обчислення.

5.1. Визначте середню вагу (мг): $m_{\text{сер}} = (m_1 + m_2 + m_3 + m_4 + m_5 + m_6 + m_7 + \dots + m_{10}) / 10$,

де $m_{\text{сер}}$ — середнє значення ваги;

$m_1, m_2, \dots, m_{10}$ — значення ваги при кожному вимірі.

5.2. Визначте середній об'єм піпетки за результатами вимірювань (мкл):

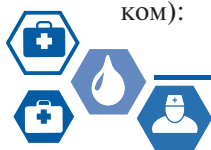
$$V_m = m_{\text{сер}} \times W_t,$$

де V_m — середній об'єм піпетки за результатами вимірювань;

$m_{\text{сер}}$ — середнє значення ваги;

W_t — фактор.

5.3. Визначте відсоток похибки, яку робить піпетка (різниця між значеннями, отриманими за результатами вимірювань, та встановленими виробником):



$$E\% = (V_m - V_{\text{вир}}) \times 100 / V_{\text{вир}},$$

де $E\%$ – похибка, виражена у відсотках;

V_m – середній об'єм піпетки за результатами вимірювань;

$V_{\text{вир}}$ – об'єм, встановлений виробником.

5.4. Допустима похибка:

$\pm 5\%$ для піпеток об'ємом 1–50 мкл;

$\pm 3\%$ для піпеток об'ємом > 50 мкл.

5.5. Якщо похибка перевищує вказані межі, то слід її відрегулювати і повторити процедуру калібрування.

Якщо піпетку неможливо налагодити, то користуватися нею більше не можна.

5.6. Формуляр для калібрування піпеток.

Дата: _____ Температура води _____ °C	
Відповідний коефіцієнт W_t _____	
Номинальний об'єм піпетки: _____ мкл	Номинальний об'єм піпетки: _____ мкл
№ піпетки: _____	№ піпетки: _____
ВИМІРИ	ВИМІРИ
1. _____	1. _____
2. _____	2. _____
3. _____	3. _____
4. _____	4. _____
5. _____	5. _____
6. _____	6. _____
7. _____	7. _____
8. _____	8. _____
9. _____	9. _____
10. _____	10. _____
СЕРЕДНЯ МАСА: $m_{\text{сер}} =$ _____	СЕРЕДНЯ МАСА: $m_{\text{сер}} =$ _____
СЕРЕДНІЙ ОБ'ЄМ ($V_m = m_{\text{сер}} \times W_t$): _____	СЕРЕДНІЙ ОБ'ЄМ ($V_m = m_{\text{сер}} \times W_t$): _____
ПОХИБКА: $E\% = (V_m - V_{\text{вир}}) \times 100 / V_{\text{вир}}$ _____	ПОХИБКА: $E\% = (V_m - V_{\text{вир}}) \times 100 / V_{\text{вир}}$ _____
Придатність: ☐ Так ☐ Ні	Придатність: ☐ Так ☐ Ні
Коригуючі дії:	Коригуючі дії:
Підпис: _____	Підпис: _____

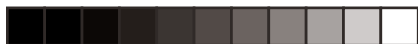


26

5.7. Таблиця 1 для визначення фактора W_t .

Температура °C	W_t
16.0	1.0021
16.5	1.0022
17.0	1.0023
17.5	1.0024
18.0	1.0025
18.5	1.0026
19.0	1,0027
20.0	1,0029
21.0	1,0031
22.0	1,0033
23.0	1,0035
24.0	1,0038
25.0	1,0040
26.0	1,0043
27.0	1,0045
28.0	1,0048
29.0	1,0051





**ПОРЯДОК ОЦІНКИ ТОЧНОСТІ
ТА ПРЕЦИЗІЙНОСТІ ВИМІРЮВАНЬ
З ВИКОРИСТАННЯМ АВТОМАТИЧНИХ ПІПЕТОК
З РЕГУЛЬОВАНИМ ОБ'ЄМОМ ДЛЯ ЗДІЙСНЕННЯ
ДОСЛІДЖЕНЬ З ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКОСТІ CD4 ЛІМФОЦИТІВ,
МЕТОДИКА ЗВОРОТНОГО ПІПЕТУВАННЯ**

Стандартна операційна процедура				
Порядок оцінки точності та прецизійності вимірювань з використанням автоматичних піпеток з регульованим об'ємом для здійснення досліджень з визначення кількості CD4 лімфоцитів, методика зворотного піпетування		Документ №		
		СОП-РЛ-ЛМ-000		
		Діє з2015		
		Перегляд:		
Сфера: Лабораторний метод Версія 1		Період ревізії: 2 роки		
		Попередня версія: НЕМАЄ		
	Підготовлено	Перевірено	Затверджено	
Підпис:				
Ім'я		ПІБ	ПІБ	
Посада:		Завідувач лабораторії	Керівник закладу охорони здоров'я	
Дата				

ПЕРЕГЛЯД

№ ревізії	Причина ревізії	Дата ревізії
1		
2		

ПОПРАВКИ

Номер	Дата	Стор. №	Поправка	Підтверджена
1.				
2.				
3.				
- Поправка повинна бути підтверджена керівництвом лабораторії. - Поправка повинна бути підкреслена і виділена зірочкою. - До повної ревізії може бути внесено до 10 невеликих поправок. - Глобальні зміни в СОП потребують негайної ревізії.				





28

ПІДПИС ПЕРСОНАЛА

Підписуючи цю сторінку, персонал закладу охорони здоров'я підтверджує, що він ознайомився з СОП і зобов'язується виконувати описану процедуру належним чином.

ПІБ	Посада	Дата	Підпис

№ з/п	ЗМІСТ	Сторінка
1	Мета	29
2	Вступ	29
3	Відповідальність	29
4	Навчання персоналу	29
5	Визначення	30
6	Процедура перевірки автоматичних піпеток	30
7	Пов'язані документи	
8	Посилання	





1. Мета

Дана СОП розробляється з метою забезпечення стандартизації виконання підготовки зразків крові до аналізу методом ПЛЦ. У цьому документі описані інструкції, пов'язані з підтвердженням точності та прецизійності дозування автоматичної піпетки, що використовується для здійснення лабораторних досліджень, а також методика зворотного піпетування. Описані в документі процедури застосовуються для автоматичних піпеток різних виробників і є універсальними. Стандартизація і дотримання зазначених правил забезпечать якість отримання правильної інформації про кількість CD4 лімфоцитів.

2. Вступ

Одноплатформенна технологія підрахунку кількості CD4 лімфоцитів методом проточної лазерної цитометрії (далі – ПЛЦ) вимагає точного вимірювання об'ємів рідин (значною мірою це стосується крові та мікросфер) під час підготовки зразків крові до аналізу. Для досягнення точного співвідношення об'ємів кров/мікросфери рекомендується методика зворотного піпетування.

Лабораторія, що здійснює дослідження методом ПЛЦ, повинна застосовувати в роботі зареєстровані в Україні в установленому порядку засоби вимірювальної техніки. Лабораторія повинна дотримуватися правил перевірки стану приладу відповідно до інструкції виробника, що враховують порядок його калібрування і частоту її проведення. Лабораторія повинна мати перелік всіх аналітичних процедур, затверджених відповідними СОП, що необхідно проводити у відповідності до інструкцій з використання обладнання.

Лабораторія повинна мати папку з інструкціями з використання всіх реагентів і устаткування (докладні інструкції надаються фірмами-виробниками до приладів, реагентів і тест-наборів), які повинні зберігатися у завідувача лабораторією.

3. Відповідальність

Весь персонал, задіяний у процедурі здійснення лабораторних досліджень, несе персональну відповідальність за виконання даної СОП.

4. Навчання персоналу

До початку використання автоматичних піпеток необхідно:

- провести навчання персоналу роботі на приладі й перевірити компетентність у здійсненні досліджень з використанням автоматичної піпетки, що використовується для лабораторних досліджень методом проточної лазерної цитометрії, у кожного виконавця;
- провести інструктаж з техніки безпеки при роботі з приладом;
- вести документацію відповідно до затверджених форм з питань техніки безпеки та навчання персоналу.





30

5. Визначення

Точність вимірювання — головна характеристика якості вимірювання, що відображає близькість результату вимірювання до істинного значення вимірюваної величини.

Стандартне відхилення — S (середнє квадратичне відхилення) результатів вимірювання — характеристика розсіяння результатів вимірювань однієї і тієї ж величини. Для серії n вимірювань величини параметр S , що характеризує розсіяння результатів n вимірювань однієї і тієї ж величини, визначається за формулою:

$$S = \sqrt{\sum (X_i - X_{\text{сер}})^2 / (n - 1)},$$

де X_i — результат i -го вимірювання, $X_{\text{сер}}$ — середнє арифметичне n результатів.

Коефіцієнт варіації (CV) — стандартне відхилення від середнього значення, виражене у відсотках. Для серії n вимірювань величини параметр CV визначається за формулою:

$$CV = S / X_{\text{сер}} \times 100\%,$$

де $X_{\text{сер}}$ — середнє арифметичне n результатів, S — середнє квадратичне відхилення.

Попередня промивка — подвійне змочування наконечника піпетки рідиною при проведенні зважування.

Прецизійність (збіг) результатів вимірювань — близькість повторних результатів вимірювань однієї і тієї ж величини в однакових умовах.

6. Процедура перевірки автоматичних піпеток

6.1. Періодичність.

Піпетки повинні перевірятися 1 раз на півроку або кожного разу, коли якість проведених досліджень є незадовільною.

6.2. Матеріали.

- Ваги аналітичні.
- Зразки крові.
- Мікросфери для підрахунку абсолютної кількості CD4 лімфоцитів.
- Вода дистильована.
- Нові чисті наконечники.
- Чисті пеніцилінові флакони.
- Формуляр для оцінки прецизійності та точності піпеток (див. п.6.6. даної СОП).

6.3. Методика перевірки прецизійності піпетування.

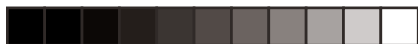
6.3.1 Відзначте у формулярі об'єм і номер піпетки.

6.3.2. Поставте пеніциліновий флакон на ваги, урівняйте ваги.

6.3.3. Встановіть на дозаторі значення об'єму 100 мкл.

6.3.4. Використовуйте методику зворотного піпетування, розкапайте 10 повторів/реплікатів крові.





6.3.5. Відзначте вагу в формулярі при кожному додаванні крові.

6.3.6. Поставте новий пеніциліновий флакон на ваги, урівняйте ваги.

6.3.7. Використовуючи методику зворотного піпетування, розкачайте 10 повторів/реплікатів мікросфер (для користувачів Flow Count Fluorospheres, Beckman Coulter).

6.3.8. Відзначте вагу в формулярі при кожному додаванні мікросфер.

6.4. Методика перевірки точності піпетування.

6.4.1. Поставте пеніциліновий флакон на ваги, урівняйте ваги.

6.4.2. Встановіть на дозаторі значення об'єму 100 мкл.

6.4.3. За методикою зворотного піпетування розкачайте 10 повторів/реплікатів дистильованої води.

6.4.4. Відзначте вагу у формулярі при кожному додаванні води.

100 мкл води важать 0,1000 грамів.

6.5. Обчислення.

6.5.1. Визначте середню вагу (мг) для кожної серії вимірів:

$$m_{\text{сер}} = (m_1 + m_2 + m_3 + m_4 + m_5 + m_6 + m_7 + \dots m_{10}) / 10,$$

де $m_{\text{сер}}$ – середнє значення ваги;

$m_1, m_2, \dots m_{10}$ – значення ваги при кожному вимірі.

6.5.2. Визначте стандартне відхилення для кожної серії вимірів.

6.5.3. Визначте коефіцієнт варіації для кожної серії вимірів.

Коефіцієнт варіації (CV) вимірів при оцінці прецизійності піпетування повинен бути **менше 2%**.

Коефіцієнт варіації (CV) вимірів при оцінці точності піпетування повинен бути **менше 2% (від 0,098 до 0,102)**.

6.5.4. Якщо коефіцієнт варіації перевищує вказані межі, то піпетку слід відрегулювати і повторити процедуру вимірювання.

Якщо піпетку неможливо налагодити, то користуватися нею більше не можна.

6.6. Формуляр для оцінки прецизійності та точності піпеток (приклад заповнення)

Дата _____ Номінальний об'єм піпетки _____ мкл			
№ піпетки: _____			
ОЦІНИТИ	ТОЧНІСТЬ	ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ	ПРЕЦИЗІЙНІСТЬ
Виміри/реплікати №	100 мкл води (грами)	100 мкл крові (грами)	100 мкл мікросфер (грами)
1	0,1036	0,1072	0,1056
2	0,1018	0,1071	0,1056
3	0,1020	0,1067	0,1055
4	0,1026	0,1069	0,1056
5	0,1008	0,1067	0,1052





32

6	0,1002	0,1060	0,1055
7	0,0989	0,1072	0,1056
8	0,1019	0,1090	0,1047
9	0,1009	0,1070	0,1050
10	0,1027	0,1066	0,1050
СЕРЕДНЯ МАСА (m_{сер})	0,1015	0,1070	0,1053
S	0,0014	0,0008	0,0003
CV (%)	1,35	0,73	0,31
Придатність: ☐ Так ☐ Ні			
Коригуючі дії			
Підпис			

6.7. Методика зворотного піпетування

6.7.1. Виберіть бажаний об'єм (для цього спочатку виставте більший об'єм, а потім повільно зменшуйте його до досягнення потрібного налаштування).

6.7.2. При підготовці зразків крові для підрахунку кількості CD4 лімфоцитів методом проточної лазерної цитометрії за одноплатформенною технологією застосовуйте техніку зворотного піпетування для досягнення кращої точності та прецизійності.

6.7.3. Зворотне дозування/піпетування здійснюйте шляхом легкого натискання контрольної кнопки на більшу глибину зупинки при аспірації рідини. Наберіть більше рідини, ніж потрібно для внесення, потім натисніть контрольну кнопку тільки до першої зупинки при розкапуванні – в наконечнику після розкапування залишиться невелика кількість рідини.

6.7.4. Виберіть відповідний наконечник (зазвичай колір співпадає з кольором контрольної кнопки).

6.7.5. Задля досягнення оптимальної точності та прецизійності:

Об'єми >10 мкл – **попередньо промийте** 2-3 рази кожен новий наконечник.

Об'єми <10 мкл – **НЕ ПРОВІДІТЬ попередньої промивки** (промийте наконечник ПІСЛЯ розкапування, щоб переконатися у тому, що внесений повний об'єм рідини).

6.7.6. Попередню промивку здійснюйте, коли застосовується новий наконечник або була перервана процедура зважування.

Підстави для попередньої промивки:

- система компенсації тиску;
- компенсація незначних відмінностей в температурі піпетки та рідини;
- компенсація властивостей рідини (рідини формують тонку плівку на внутрішній поверхні піпетки – без попередньої промивки перший





об'єм буде занадто маленьким внаслідок затримки тонкої плівки на внутрішній стінці наконечника — «товщина» і природа цієї плівки, а отже потенційне джерело похибки, буде варіювати в залежності від природи рідини, що розкапується);

- для малих об'ємів попередня промивка не рекомендується, оскільки обсяг рідини, що розкапується, буде з великим.

6.7.7. Переконайтесь, що наконечник добре закріплений.

6.7.8. Тримайте піпетку вертикально.

6.7.9. При аспірації намагайтесь тримати наконечник на постійній глибині нижче рівня поверхні рідини.

6.7.10. Ковзним рухом *повільно* і *плавно* пересувайте контрольну кнопку (електронні піпетки самі виконують цей крок).

6.7.11. При розкапуванні в'язких рідин (наприклад, сироватки, крові) не виймайте наконечник з рідини протягом 1-2 секунд після аспірації.

6.7.12. Після того як рідина набрана у наконечник, **НІКОЛИ** не кладіть піпетку на бік.

6.8. Дозування

6.8.1. За можливості, тримайте наконечник під кутом до внутрішньої стінки пробірки.

6.8.2. Ковзним рухом *повільно* і *плавно* пересувайте контрольну кнопку (електронні піпетки самі виконують цей крок).

6.9. Інші рекомендації

6.9.1. Для забезпечення точності співвідношення кров/суспензія мікросфер при застосуванні одноплатформенної технології підрахунку абсолютної кількості CD4 лімфоцитів методом проточної лазерної цитометрії розкапування крові й суспензії мікросфер здійснюйте за допомогою однієї і тієї ж піпетки.

6.9.2. Для забезпечення оптимальної роботи температура розкапаного піпеткою розчину, піпетки і наконечників повинна бути однаковою (похибки в об'ємі можуть виникати внаслідок змін у витисненні повітря та в'язкості рідини) — не розкапуйте рідини, температура яких вище 70°C.

6.9.3. Похибки в об'ємі можуть виникати також із рідинами, що мають співвідношення щільність/в'язкість, що значною мірою відрізняються від води (вода зазвичай застосовується для калібровки піпетки і перевірки неточності або неprecизійності) — у таких випадках необхідно повторно калібрувати піпетку для рідин, щільність яких значно відрізняється від щільності води.

6.9.4. Прецизійність та точність піпетки слід регулярно перевіряти.

6.9.5. Необхідним є регулярне обслуговування піпетки (чистка, дезінфекція тощо) відповідно до інструкції з експлуатації виробу.

6.9.6. Використовуйте піпетки у відповідності до інструкції з експлуатації виробу.





34

7. Пов'язані документи

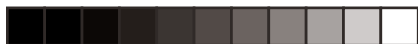
7.1. СОП «Визначення кількості CD4 Т-лімфоцитів на проточному цитометрі Beckman Coulter Cytomics™ FC 500 у пацієнтів, інфікованих вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ)» ІН документа XXX

7.2. СОП «Біологічна безпека при роботі в лабораторії» ІН документа XXX.

8. Посилання

Настанови та інструкції з експлуатації автоматичних піпеток з регульованим об'ємом від виробників обладнання.





ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКОСТІ CD4 Т-ЛІМФОЦИТІВ НА ПРОТОЧНОМУ ЦИТОМЕТРІ BECKMAN COULTER CYTOMICS FC 500 У ПАЦІЄНТІВ, ІНФІКОВАНИХ ВІРУСОМ ІМУ- НОДЕФІЦИТУ ЛЮДИНИ (ВІЛ)

Стандартна операційна процедура				
Визначення кількості CD4 Т-лімфоцитів на проточному цитометрі Beckman Coulter Cyto-mics™ FC500 у пацієнтів, інфікованих вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ)			Документ №	
			СОП-РЛ-ЛМ-000	
			Діє з:2015	
			Перегляд	
Сфера: Лабораторний метод Версія 1			Період ревізії: 2 роки	
			Попередня версія: НЕМАЄ	
	Підготовлено	Перевірено	Затверджено	
Підпис				
Ім'я		ПІБ	ПІБ	
Посада		Керівник лабораторії	Керівник за-кладу охорони здоров'я	
Дата				

ПЕРЕГЛЯД

№ ревізії	Причина ревізії	Дата ревізії
1		
2		

ПОПРАВКИ

Номер	Дата	Стор. №	Поправка	Підтверджена
1.				
2.				
3.				
- Поправка повинна бути підтверджена керівництвом лабораторії. - Поправка повинна бути підкреслена і виділена зірочкою. - До повної ревізії може бути внесено до 10 невеликих поправок. - Глобальні зміни в СОП потребують негайної ревізії.				





36

ПІДПИС ПЕРСОНАЛУ

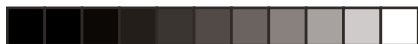
Підписуючи цю сторінку, персонал закладу охорони здоров'я підтверджує, що він ознайомився з СОП і зобов'язується виконувати описану процедуру належним чином.

ПІБ	Посада	Дата	Підпис

ЗМІСТ

1	Мета	
2	Огляд	
3	Відповідальність	
4	Техніка безпеки при проведенні досліджень методом проточної лазерної цитометрії	
5	Навчання персоналу	
6	Словник термінів	
7	Приготування зразків крові до аналізу	
7.1	Забір крові та вибір антикоагулянта	
7.1.1	Підготовка пацієнта	
7.1.2	Необхідні матеріали та устаткування	
7.1.3	Порядок виконання процедури забору венозної крові у пацієнтів для досліджень з визначення кількості CD4 T-лімфоцитів	
7.1.4	Особливі ситуації	
7.2	Зберігання та транспортування зразків крові	
7.3	Вимоги до зразка	
7.4	Процедури прийому, обробки та утилізації зразків крові в лабораторії	
7.5	Підготовка зразків крові для аналізу методом проточної лазерної цитометрії	
8	Виконання досліджень на проточному цитометрі Cytomics™ FC 500	
8.1	Реагенти та матеріали	
8.2	Обладнання	
8.3	Дослідження зразка на проточному цитометрі Cytomics™ FC500	
8.4	Проведення досліджень	
8.5	Створення протоколу та панелі дослідження	
9	Вимкнення приладу	





ДУ «Український центр
контролю за соціально-медичними
МОЗ України»

Версія 1.0

Дата

Кількість
сторінок: 10
Сторінка 1 з 10

Назва: Визначення кількості
CD4 T-лімфоцитів на про-
точному цитометрі Beckman
Coulter Cytomics FC 500.м...

ІН документа

10	Утилізація лабораторних відходів	
1011	Інтерпретація результатів досліджень	
1112	Контроль якості	
1213	Посилання	
1314	Перелік додатків	

37



Референс-лабораторія діагностики ВІЛ-інфекції/СНІДу з відділами імунології ВІЛ-інфекції,
вірусології ВІЛ-інфекції, серології ВІЛ-інфекції Державної установи «Український центр контролю
за соціально небезпечними хворобами Міністерства охорони здоров'я України»
Документ No: Реф.Лаб.СОП.ББ.000- ... 2015 • Версія 1





38

1. Мета

Метою даної СОП є визначення субпопуляційного складу Т-лімфоцитів (CD3, CD4) з використанням моноклональних антитіл.

У цьому документі описані інструкції, пов'язані з проведенням досліджень з визначення кількості CD4 Т-лімфоцитів методом проточної лазерної цитометрії.

2. Огляд

Зменшення кількості CD4 лімфоцитів до 350 клітин/мкл та нижче є основним показанням до призначення антиретровірусної терапії (АРТ) ВІЛ-інфікованим хворим.* Визначення відносної (%) та абсолютної (клітини/мкл) кількості CD4 клітин в цільній крові здійснюють методом проточної лазерної цитометрії на проточному цитометрі**.

*Посилання 12.9.1. Наказ МОЗ від 12.07.10 №551 Клінічний протокол антиретровірусної терапії ВІЛ-інфекції у дорослих та підлітків

** Посилання 12.9.2. Керівництво користувача Cytomics™ FC 500 (Первоначальний випуск, 3/02. Версія програмного забезпечення RXP 1.0. Начальний випуск для розповсюдження серед користувачів), «ПРОТОЧНИЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТР COULTER® EPICS® XLTM, ПРОТОЧНИЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТР COULTER® EPICS® XL-MCLTM, Программное обеспечение SYSTEM ITM»

3. Відповідальність

Весь персонал, задіяний у процедурі здійснення досліджень з визначення кількості CD4 Т-лімфоцитів, несе персональну відповідальність за виконання даної СОП.

Загальна інформація про розміщення проточного цитофлуориметра

Назва лабораторії/ЗОЗ

Адреса

Робочий час

4. Техніка безпеки при проведенні досліджень методом проточної лазерної цитометрії

4.1. Рівень біологічної безпеки *

*Посилання 9.113.3. Наказ МОЗ України від 08.06.2015 № 325, зареєстрований в Міністерстві юстиції України 07 серпня 2015 р. за № 959/27404 «Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами»

Посилання 12.4. Наказ МОЗ України від 05.11.2013 №955, зареєстрований в Міністерстві юстиції України. 20 листопада 2013 р. «Про затвердження нормативно-правових актів щодо захисту від зараження ВІЛ-інфекцією при виконанні професійних обов'язків»

Посилання 12.5.ДСП №9.9.5.-080-02” Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю»

**Посилання 9.213.2.. Керівництво користувача Cytomics™ FC 500 (Первоначальний випуск, 3/02. Версія програмного забезпечення RXP 1.0. Начальний випуск для розповсюдження серед користувачів), «ПРОТОЧНИЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТР COULTER® EPICS® XLTM, ПРОТОЧНИЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТР COULTER® EPICS® XL-MCLTM, Программное обеспечение SYSTEM ITM»



Референс-лабораторія діагностики ВІЛ-інфекції/СНІДу з відділами імунології ВІЛ-інфекції, вірусології ВІЛ-інфекції, серології ВІЛ-інфекції Державної установи «Український центр контролю за соціально небезпечними хворобами Міністерства охорони здоров'я України»
Документ No: РефЛаб.СОП.ББ.000* ... 2015 • Версія 1



4.2. Для запобігання пошкоджень шкіри і слизових від забруднень при роботі із зразками крові ВІЛ-інфікованих та хворих на вірусні гепатити повинні бути використані універсальні запобіжні заходи. Ці заходи передбачають:

- обов'язкове використання рукавичок, лабораторних халатів, захисних масок або екрану із захисними окулярами під час отримання зразків крові та виконання досліджень; маски і засоби для захисту очей слід надягати під час процедур, які можуть супроводжуватись утворенням бризок, крапель, аерозолів крові або інших потенційно інфекційних матеріалів; не використовуйте рукавички з тальком і не здійснюйте дослідження голими руками; зміна спецодягу проводиться не рідше одного разу на тиждень;
- обов'язкове дотримання заходів безпеки при роботі з кров'ю;
- обережність при виконанні маніпуляцій, щоб звести до мінімуму утворення крапель, бризок і розливів крові або біологічних рідин.

4.3. Для дозування крові і реагентів слід використовувати безпечні пристосування (дозатори). Забороняється набирати рідину ротом.

4.4. Після закінчення роботи зі зразками слід зняти рукавички і вимити руки з милом.

4.5. Вимоги до обладнання і техніка безпеки при роботі з проточними цитометрами:

- обладнання для проведення досліджень методом проточної лазерної цитометрії повинно входити до переліку дозволених для використання на території України відповідно до діючих нормативних документів України;
- проточні лазерні цитометри, а також станція автоматичної підготовки проб до аналізу методом ПЛЦ не відносяться до засобів виміральної техніки; можуть бути використані для реєстрації й оцінки розподілу декількох клітинних маркерів в одній пробі без регламентації погрішності; не підлягають державній метрологічній атестації й повірці;
- більшість проточних цитометрів містять повністю вбудовані лазери низької потужності, проте деякі з них (сортери) можуть бути оснащені лазерами високої потужності, які не повністю вбудовані; тому, з метою захисту від впливу лазерного пучка, кожного разу слід надягати захисні окуляри.
- проточний цитометр представляє загрозу для оператора внаслідок його потенційного контакту з крапельками і аерозолями, що з'являються під час заправки проби; часткова закупорка наконечника насадки або повітря в системі подачі рідини можуть значною мірою збільшити вироблення аерозолі; для захисту оператора під час проведення досліджень слід надягати захисні маски (екрани).

4.6. Вимоги до обробки приміщень і знезараження матеріалу:

- усі дезінфекційні засоби, що застосовуються в лабораторії, повинні бути зареєстровані МОЗ України відповідно до діючих нормативних документів України;





40

- дезінфекційні засоби повинні використовуватись за призначенням відповідно до режиму використання;
- знезараження матеріалу, підозрюваного на інфікованість мікроорганізмами I–IV груп патогенності, проводять відповідно до діючих нормативних документів України;
- якщо рідина (кров) розлилася, її слід дезінфікувати свіжо приготовленим розчином гіпохлориту натрію 1/10 (за об'ємом) (побутовий підбілювач – 5%) або відповідним чином розведеним мікобактерицидним дезрозчином; обкладіть пляму розлитої рідини з усіх боків сорбційним матеріалом (промокальним папером) і наливайте на нього й у напрямку плями дезінфікуючий розчин; через 30 хвилин витріть; усі відходи слід утилізувати відповідно до інструкцій з утилізації біологічно небезпечних відходів;
- після фарбування і лізису всі зразки слід зафіксувати розчином формальдегіду; незважаючи на те, що реагенти до проточної лазерної цитометрії вже містять речовину, яка зменшує інфекційну активність ВІЛ, асоційованого з клітиною, на 3–5 log, ефективність цих речовин у відношенні до інших інфекційних агентів (наприклад, вірусу гепатиту С) не визначалась; тому, перед аналізом на проточному цитометрі у всі зразки рекомендується додавати по 500–1000 мкл 1–2% формальдегіду (параформальдегіду) (pH 7,0–7,4);
- забороняється автоклавувати зафіксовані формальдегідом зразки крові, оскільки можливе виділення токсичного газоподібного формальдегіду; зафіксовані зразки можна зливати в контейнер, який містить відповідну кількість гіпохлориту натрію;
- на кожному робочому місці розташовують спеціальний контейнер з дезінфікуючим розчином, у який скидають одноразовий пластиковий посуд (пробірки у відкритому стані, наконечники); знезаражують відходи після закінчення роботи в спеціальній кімнаті (кімната для проведення знезараження біологічного матеріалу або препаратів); після відповідної експозиції розчин зливають у каналізаційну мережу, а відпрацьований пластик може бути утилізований на полігоні побутових відходів;
- штативи для пробірок і наконечників занурюють у дезінфекційні розчини; всі предмети повинні перебувати в безпосередньому контакті з дезінфекційним засобом, навкруги предмета не повинно бути бульбашок повітря;
- дезінфекцію відходів проточного цитометра слід здійснювати відповідно до рекомендацій виробника, викладених у технічному паспорті до приладу; наприклад, перед початком роботи налейте в контейнер для відходів 5% гіпохлорит натрію із розрахунку, що його кінцева концентрація в повному контейнері має бути 0,5% (якщо об'єм контейнера становить 1 л, необхідно додати 100 мл 5% гіпохлориту натрію);
- дезінфекцію проточного цитометра також здійснюють у відповідності до рекомендацій виробника; одним із можливих шляхів дезінфекції потоку рідини цитометра є промивання проточної кювети напри-





кінці робочого дня 0,5% розчином гіпохлориту натрію протягом 10 хвилин; після цього для видалення залишків дезінфікуючого розчину прилад слід промити дистильованою водою або робочим буфером не менше 10 хвилин для запобігання пошкодження шляхів потоку рідини.

4.7. Вимоги до приміщень лабораторії, де здійснюють дослідження методом проточної лазерної цитометрії:

- рекомендовані розміри приміщення для установки проточного цитометра — не менше 10 м²;
- планувальні рішення і розміщення обладнання повинні забезпечувати поточність руху досліджуваного матеріалу за технологічним процесом;
- лабораторія, устаткована проточним цитометром, повинна бути обладнана водопроводом, каналізацією, забезпечена електрикою і опалюванням відповідно до чинного законодавства; всі приміщення лабораторії повинні бути забезпечені достатнім природним і штучним освітленням; у кожній робочій кімнаті повинна бути раковина для миття рук; вимоги до електроживлення — 220/240V, 50Гц, 16А; необхідна кількість розеток для підключення приладу — 3–4 євророзетки із заземленням.
- лабораторії, в приміщеннях яких проводяться дослідження методом проточної лазерної цитометрії, слід обладнувати припливно-витяжною або витяжною вентиляцією;
- рекомендований оптимальний температурний режим для роботи приладу — 16–29°C, вологість повітря — 10–90%; для підтримки температурного режиму лабораторії необхідно встановити кондиціонери;
- прилад має бути встановлений поза зоною прямих сонячних променів.

4.8. Для забезпечення безпеки роботи співробітників необхідно проводити навчання персоналу лабораторії. Дії співробітників лабораторії визначають їх власну безпеку, а також безпеку їх колег. Лабораторне обладнання і його дизайн сприяють забезпеченню безпеки лише при його правильній експлуатації. Отже, керівнику лабораторії слід регулярно проводити інструктаж з техніки безпеки при роботі в лабораторії й контролювати неухильне дотримання протоколів з техніки безпеки усіма працівниками лабораторії.

5. Навчання персоналу

До початку виконання досліджень методом проточної лазерної цитометрії необхідно:

- провести навчання персоналу роботі на приладі й перевірити компетентність у здійсненні досліджень з визначення кількості CD4 Т-лімфоцитів у кожного виконавця;
- провести первинний інструктаж з використанням даної СОП, після ознайомлення з якою особа ставить свій підпис на відповідній сторінці СОП.





42

- провести інструктаж з техніки безпеки при роботі з приладом;
- вести документацію відповідно до затверджених форм з питань техніки безпеки і навчань персоналу;

6. Словник термінів

- **«CD» (або кластер диференціювання)** — це білкова молекула, експресована на поверхні клітин гематопоетичної системи. Експресія цих білків використовується для номенклатури лімфоцитів. Сьогодні відомо про більш ніж 300 молекул CD, які також асоціюють із специфічною функцією клітин, на яких вони експресовані. Клітини з різними функціями експресують різні CD (наприклад, CD3 клітини — це всі Т-лімфоцити, CD4 — це Т-хелпери, CD8 — це Т-цитотоксичні лімфоцити, CD19 — це В-лімфоцити, CD56 — це природні кілери).
- **Власні параметри клітини** — це морфологічні параметри (розмір і гранулярність), які визначаються характеристиками світлорозсіювання (прямого і бокового).
- **Зовнішні параметри клітини** — це параметри поверхневого флуоресцентного пофарбування.
- **Гомогенний рейтинг** базується на визначенні двох власних параметрів клітини чи двох зовнішніх параметрів.
- **Гетерогенний рейтинг** базується на поєднанні власне клітинного і зовнішнього параметрів (морфологічної характеристики й флуоресцентного пофарбування).
- **Двохплатформена технологія:** у підрахунку абсолютної кількості клітин задіяні 2 прилади: проточний цитометр та гематологічний аналізатор.
- **Одноплатформена технологія:** підрахунок абсолютної кількості клітин відбувається на проточному цитометрі.
- **Методика зворотного дозування** рекомендується для більш точного дотримання обсягів. Електронні піпетки досить часто мають автоматичний режим зворотного розкриття Рг. У даному випадку варто уважно прочитати інструкцію до піпетки. Методика зворотного дозування може бути виконана з використанням звичайної піпетки. Натисніть на контрольну кнопку глибше (крок 2) і наберіть у наконечник додатковий обсяг рідини. Дозуйте рідину, натискаючи на контрольну кнопку як зазвичай (крок 1). Таким чином, у наконечникові залишається невеликий обсяг рідини. Не відпускаючи кнопку, наберіть новий обсяг, і дозуйте його, як в перший раз. У наконечникові повинен постійно залишатися невеликий обсяг рідини.
- **Стандартні налаштування (вирівнювання)** — це частки з високою однорідністю і високою інтенсивністю флуоресценції, що використовуються для верифікації оптичного налаштування й оптимізації системи потоку рідини.





- **Роздільна здатність:** налаштування (вирівнювання) проточного цитометра досягається при оптимальному положенні потоку клітин відносно променя лазера. Це робиться шляхом максимізації сигналів флуоресценції і розсіяння (максимальний середній піковий канал) з одночасною мінімізацією сигналу варіабельності ($CV < 2\%$).
- **Стандарти калібрування** вміщують популяції часток з різною інтенсивністю флуоресценції, пофарбованих різними флуорохромами. Використовуються для оцінки параметрів стану системи: лінійності, чутливості й динамічного діапазону.
- **Лінійність** — це здатність приладу давати результат прямо пропорційний кількості параметру в зразку, що досліджується.
- **Чутливість** — це мінімальна флуоресценція, яку здатний визначити прилад.
- **Динамічний діапазон** — це спектр інтенсивності флуоресценції, який може бути заміряний приладом.
- **Референс-стандарти** — це частки з інтенсивністю флуоресценції, близькій до клітин, які використовуються для встановлення вікна аналізу.
- **Вікно аналізу** — це спектр інтенсивності флуоресценції, яка може бути виміряною при відповідних настройках.
- **Цільовий канал** — це положення піку (MdX) всередині вікна аналізу під час дослідження референс стандартів. Використовується для стандартизації налаштувань приладу.

7. Приготування зразків крові до аналізу

7.1. Забір крові та вибір антикоагулянта

Забір матеріалу для досліджень методом проточної лазерної цитометрії здійснює персонал, який пройшов інструктаж з цього питання.

7.1.1. Підготовка пацієнта.

Взяття проб здійснюється до проведення діагностичних і лікувальних процедур. Напередодні пацієнт повинен утриматися від прийому алкоголю і фізичних навантажень. У день забору крові рекомендується з'явитися натще (між 7–9 годинами ранку) і не раніше, ніж через 12 годин після останнього прийому їжі.

7.1.2. Необхідні матеріали та устаткування

- Стіл для розташування зразків крові. Може бути пересувним, що дозволяє переміщати його для зручності у роботі.
- Штативи для пробірок. Повинні бути легкими, зручними, з достатньою кількістю вічок для пробірок.
- Крісло для венепункції або кушетка. Для проведення венепункції рекомендується спеціальне крісло. Пацієнт під час венепункції повинен сидіти з максимальним комфортом і безпекою для нього й бути доступним для медичного персоналу процедурного кабінету. Обидва підлокітники крісла повинні розташовуватися так, щоб можна було знайти оптимальну для кожного пацієнта позицію при венепункції.





44

Підлокітники служать опорою для рук і не дозволяють згинати лікті, що запобігає спаданню вен. Крім того, крісло повинне оберігати пацієнтів від падіння в разі непритомності.

- Холодильник.
- Голки для забору крові. Стерильні голки від 21 до 23 за шкалою гейдж (G) з номінальним зовнішнім діаметром голки від 0,8 до 0,6 мм та довжиною від 25 до 38 мм. Голки повинні мати гумовий клапан безпеки і бути сумісними з різними типами закритих систем для забору крові (вакуумних пробірок).
- Пластикові тримачі голок. Пластикові тримачі використовуються для фіксації голки (на одному кінці) й вакуумної пробірки для забору крові (на іншому).
- Вакуумні пробірки для забору крові (з фіолетовою кришкою).

Кров для досліджень з визначення кількості CD4 Т-лімфоцитів збирається у вакуумну пробірку, що містить антикоагулянт — сіль етилендіамінтетрацетової кислоти (К2-ЕДТА, К3-ЕДТА). Для забору крові рекомендовані пробірки з напленням К2-ЕДТА (або К3-ЕДТА) у вигляді мікрокраплин, що забезпечує рівномірне розподілення К2-ЕДТА (або К3-ЕДТА) по стінках пробірки.

К3-ЕДТА не рекомендується застосовувати для зразків, які були зібрані більш як за 30 годин до проведення дослідження методом проточної лазерної цитометрії, оскільки доля деяких популяцій лімфоцитів за цей час може змінитися.

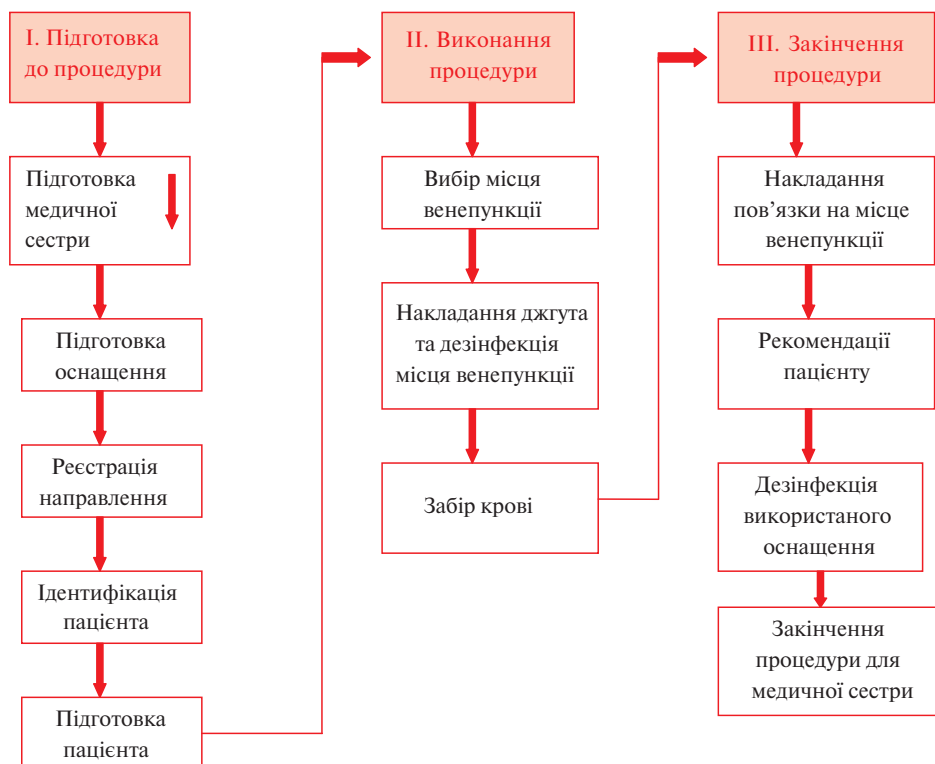
- Джгути. Джгути використовують для наповнення вени для зручності взяття з неї крові.
- Антисептики. Для очищення й дезінфекції місця проколу використовують індивідуально упаковані серветки, просякнуті 70% спиртом.
- Марля. Стерильні марлеві квадрати (5 x 5 см) використовують для зупинки кровотечі після здійснення забору крові, для чого їх необхідно скласти і приклеїти до місця проколу лейкопластиром.
- Гумові рукавички (нітрілові) без тальку.
- Халат. У всіх випадках персонал, який проводить венепункцію, повинен бути одягнений у спеціальний захисний одяг: халат (брюки і куртка або комбінезон; халат поверх брюк або комбінезона), шапочка (косинка), марлева маска, захисні окуляри або щиток, рукавички. Халат слід міняти в міру забруднення, але не рідше двох разів на тиждень. Повинна бути передбачена негайна зміна спецодягу в разі забруднення її кров'ю.
- Контейнер для утилізації гострих предметів. Для утилізації голок й інших гострих предметів (наприклад, скляних капілярів) необхідно застосовувати контейнер з маркуванням «BIOHAZARDOUS».
- Контейнер для утилізації витратних матеріалів. Для утилізації витратних матеріалів (марлевих серветок, рукавичок й інших забруднених, але негострих предметів) необхідно застосовувати контейнер з маркуванням «BIOHAZARDOUS».



- Розчин аміаку. Використовують для приведення до тями непритомних пацієнтів, які втратили свідомість або відчувають запаморочення.
- Холодний компрес. Використовують для непритомних пацієнтів, які втратили свідомість або відчувають запаморочення.
- Дезінфікуючий засіб. 70% спирт або 6% перекис водню повинні використовуватись для зупинки невеликої кровотечі.
- Маркери, стікери. Повинні бути доступні стікери (2,5 x 5 см) і маркери для маркування зразків.

7.1.3. Порядок виконання процедури забору венозної крові у пацієнта для досліджень з визначення кількості CD4 T-лімфоцитів.

7.1.3.1. Забір венозної крові за допомогою закритої системи (схема):





46

I. Підготовка до процедури

1. Вимийте і висушіть руки, одягніть халат.
2. Запросіть пацієнта, зареєструйте направлення на дослідження.

Всі зразки цільної крові маркуйте безпосередньо під час взяття крові. На пробірці із зразком позначте ідентифікаційні дані пацієнта (прізвище, реєстраційний номер), точний час і дату забору крові.

Кожне направлення на дослідження з визначення кількості CD4 Т-лімфоцитів повинно бути зареєстроване для ідентифікації всіх документів й інструментарію, які стосуються одного пацієнта. В направленні на дослідження (додаток 1) повинна бути вказана наступна інформація:

- дані про пацієнта: впишіть прізвище, ім'я та по-батькові пацієнта або позначте індивідуальний номер чи код пацієнта, присвоєний йому в закладі охорони здоров'я (ЗОЗ);
- інша необхідна для проведення дослідження інформація (дата і результат останнього обстеження на CD4; дата і час забору крові);
- інформація про заклад охорони здоров'я, звідки надійшов зразок на дослідження;
- інформація про лікаря, який замовив дослідження.

Номер направлення обов'язково має відповідати номеру пробірки (вакутайнеру), в якій доставляється плазма крові на дослідження.

Інформація на вакутайнері має співпадати з інформацією з направлення на дослідження.

3. Проведіть ідентифікацію пацієнта. Для цього:

- запитайте у пацієнта його ім'я та прізвище та/або дату народження;
- порівняйте цю інформацію з зазначеною у направленні.

4. Поясніть пацієнту мету і хід майбутньої процедури. У доступній для пацієнта формі, з урахуванням його психологічних особливостей, поясніть, що представляє собою процедура, які неприємні відчуття і коли може відчувати пацієнт.

5. При взятті крові у пацієнта, що перебуває в сутінковому стані, дотримуйтесь особливої обережності, щоб попередити несподівані рухи і здригання в момент введення голки або перебування її в просвіті вени. Напоготові повинна бути марлева серветка.

6. При випаданні або зміщенні положення голки джгут потрібно швидко зняти. Якщо несподівано голка глибоко увійшла в руку, необхідно попередити лікаря про можливість ушкоджень.

7. Перевірте, чи готовий пацієнт до дослідження. У разі якщо на момент обстеження пацієнт приймає лікарські препарати (антибіотики, гормони, цитостатики), в супровідному документі повинні бути зроблені відповідні записи.

У випадку якщо пацієнт отримує внутрішньовенні вливання, проби слід брати з руки, в вени якої не проводилося вливання.

Для досліджень з визначення кількості CD4 Т-лімфоцитів кров повинна набиратися виключно з дотриманням наступних часових інтервалів після припинення внутрішньовенного вливання:





Вид вливання	Час до взяття проби
Амінокислоти і гідролізати білків	1 година
Електроліти	1 година
Розчини, багаті вуглеводами	1 година
Емульсії жирів	8 годин

47

При взятті проби з артеріальних або венозних катетерів канюлю промийте ізотонічним сольовим розчином (фізіологічним розчином) в обсязі, що може бути порівняний з об'ємом катетера. Перші 5 мл крові утилізуйте і тільки після цього беріть основну пробу. В супровідному направленні зразка в лабораторію вкажіть, яку процедуру отримав даний пацієнт, коли і яке вливання йому зроблено.

8. Зручно розташуйте пацієнта. Розташуйте руку пацієнта так, щоб плече і передпліччя утворювали пряму лінію.

9. Зберіть необхідне оснащення, описане в розділі 7.1.2. Необхідні матеріали та устаткування даної СОП.

10. Виберіть відповідну пробірку і голку для забору крові.

11. Позначте на пробірці дату, час забору крові, ім'я пацієнта.

12. Одягніть захисні окуляри, маску і рукавички.

II. Виконання процедури

13. Усадіть пацієнта і запитайте, яка рука краще для забору крові. Пацієнт повинен відчувати зручність розміщення, рукав має бути підкочений, а рука — лежати на підлокітнику крісла для забору крові.

14. Накладіть джгут вище місця венепункції на відстані 7–10 см на сорочку або пелюшку. При накладанні джгута не використовуйте руку на стороні мастектомії. Джгут має бути досить затягнутим, навіть якщо це призведе до деякої незручності для пацієнта.

15. Відкрийте упаковку голок. Не знімайте ковпачок з голки. Вгвинтіть голку і вставте її в пластиковий тримач.

16. Попросіть пацієнта стиснути кулак. Не можна задавати для руки фізичне навантаження (енергійне стискання і розтискання кулака).

17. Виберіть оптимальне місце для проколювання вени. Уникайте ділянок зі шрами або синцями і місць нещодавніх внутрішньовенних маніпуляцій. За можливості слід використовувати головну серединну вену. Для посилення течії крові можуть допомогти наступні способи:

- різке стискання шкіри на внутрішній поверхні ліктя вказівним і середнім пальцями може призвести до наповнення вени;
- масаж руки від зап'ястя до ліктя може направити кров у вену і призвести до її наповнення;
- накладання теплового мокрого рушника (близько 40°C) на руку протягом 5 хвилин може привести до наповнення вени;
- струшування пацієнтом рукою протягом 5 хвилин може сприяти наповненню вени.





48

18. Продезінфікуйте місце венепункції марлевою серветкою, змоченою антисептиком, круговими рухами від центру до периферії.

19. Почекайте до повного висихання антисептика або просушіть місце венепункції стерильним сухим тампоном. Після дезінфікування не торкайтеся місця проколу, не пальпуйте вену! Якщо під час венепункції виникли складнощі і вена пальпувалась повторно, цю область потрібно продезінфікувати знову.

20. Зніміть з голки захисний ковпачок.

21. Зафіксуйте вену. Для цього обхопіть лівою рукою передпліччя пацієнта так, щоб великий палець знаходився на 3–5 см нижче місця венепункції, натягніть шкіру. Медична сестра повинна знаходитися перед пацієнтом, щоб у разі неприйнятності підтримати його і не дати йому впасти.

22. Введіть голку у вену. Голка з тримачем вводиться зрізом вгору під кутом 150. При використанні голки з прозорою камерою при попаданні у вену в індикаторній камері з'явиться кров.

23. Вставте пробірку в тримач з боку її кришки. Великим пальцем натисніть на дно пробірки, утримуючи при цьому ободок утримувача вказівним і середнім пальцем. Для запобігання закриття запобіжного клапану голки, забезпечте постійний тиск на пробірку. Намагайтеся не змінювати руки, оскільки це може призвести до зміни положення голки у вені. Під дією вакууму кров самостійно почне набиратися в пробірку. Ретельно дозований обсяг вакууму забезпечує необхідний об'єм крові і точне співвідношення кров/антикоагулянт в пробірці. Щоб запобігти потраплянню реагентів з пробірки у кровотік пацієнта, тримайте її у вертикальному положенні. Якщо після проколу пробки кров не почне поступати в пробірку, це може означати, що ви не потрапили у вену або прокололи її наскрізь. У випадку наскрізного проколювання виправити ситуацію може часткове відтягування голки назад. Якщо ви не потрапили у вену, слід просунути голку вперед. Якщо ви відчуваєте, що попри те, що голка знаходиться у вені, кров не тече, використовуйте іншу пробірку.

24. Зніміть (послабте) джгут як тільки кров почне надходити в пробірку. Тік крові припиняється, як тільки припиняється дія вакууму.

25. Попросіть пацієнта розтиснути кулак.

26. Витягніть пробірку з тримача після того, як в неї припинила надходити кров. Витягувати пробірку зручніше, упираючись великим пальцем в ободок тримача.

27. Перемішайте вміст наповненої кров'ю пробірки шляхом перевертання пробірки 8–10 разів для повного змішування крові з антикоагулянтом. Не струшуйте різко пробірку! Застосування міксерів і струшування пробірок неприпустимо, оскільки це призводить до гемолізу та одержання неправильних результатів досліджень з визначення кількості CD4 Т-лімфоцитів. Необхідно дотримуватися правильного співвідношення крові і антикоагулянту. Недостатня кількість крові або переповнення пробірки може привести до спотворення результатів імунофенотипування.





III. Закінчення процедури

49

28. Прикладіть суху стерильну серветку до місця венепункції. Попросіть пацієнта потримати її не менше 2 хвилин, притиснувши до місця проколу.

29. Витягніть голку з вени. Потім помістіть голку в спеціальний контейнер для використаних голок.

30. Накладіть пов'язку, що давить, або бактерицидний пластир на місце венепункції. Надайте рекомендації пацієнту тримати пов'язку не менше 15 хвилин.

31. Проведіть дезінфекцію використаного устаткування.

32. Промаркуйте взяті зразки крові, вказавши на етикетці кожної пробірки ПІБ пацієнта, час взяття крові. Поставте свій підпис.

33. Переконайтеся, що з пацієнтом усе гаразд, що кровотеча зупинилась і пацієнт відчуває себе нормально.

34. Транспортуйте промарковані пробірки з кров'ю в спеціальних контейнерах з кришками, що піддаються дезінфекції, у відповідні лабораторії.

7.1.3.2. Забір венозної крові за допомогою шприца

Одноразові шприци з голками від 21 до 23 за шкалою гейдж (G-номінальний зовнішній діаметр голки 0,8–0,6 мм) використовуються для забору крові у дітей віком до 2 років та пацієнтів із складними венами (тонкі, ниткоподібні і т. ін.).

Після забору забрана кров переноситься зі шприца до пробірки.

Отримання венозної крові за допомогою шприца проводиться так само, як і у випадку застосування закритої системи для забору крові, але з наступними змінами у процедурі:

1. Вставте стерильну голку з захисним ковпачком у шприц.

2. Здійсніть забір крові із вени.

3. Після отримання достатньої кількості крові витягніть голку з вени і негайно прикладіть марлеву пов'язку на місце проколу для зупинки кровотечі.

4. Якомога швидше перенесіть кров у відповідні пробірки. Затримка може привести до передчасної коагуляції. Після проколювання гумової пробки кров буде поступати в пробірку за рахунок вакууму. Не тисніть на поршень шприца! У цій ситуації може статися гемоліз і, як наслідок цього, буде необхідний повторний забір крові для аналізу.

5. Після закінчення перенесення крові у пробірку помістіть шприц з голкою як одне ціле (не знімаючи голку з шприца) в контейнер для гострих біологічно небезпечних предметів.

7.1.4. Особливі ситуації

Забір крові у дітей

Переконайте дитину, що процедура не займе багато часу. Якщо це можливо, обіцяйте дитині винагороду (яскравий стікер або цукерку тощо) за хорошу поведінку.





50

У дітей віком до 2 років забір крові з вени має бути здійснений з використанням туберкулінових шприців з голками від 21 до 23 за шкалою гейдж (номінальний зовнішній діаметр голки 0,8–0,6 мм) або голкою — метеликом за шкалою гейдж (G) від 20 до 23 (номінальний зовнішній діаметр голки 0,9–0,6 мм) з пробіркою, прикріпленою до пластикового утримувача пробірки.

Проблеми, пов'язані з реакціями пацієнта

НЕПРИТОМНІСТЬ

1. Якщо пацієнт сидить, опустіть його голову і руки. Якщо пацієнт лежить, підніміть йому ноги.
2. Послабте тісний одяг на пацієнтові.
3. Поміряйте і запишіть показники кров'яного тиску, пульс і частоту дихання.
4. До лоба і шиї пацієнта прикладіть холодні компреси.
5. Спробуйте привести пацієнта до тями за допомогою розчину аміаку. У цьому випадку пацієнт має закашляти.
6. Викличте лікаря, якщо самі не можете впоратись.

НУДОТА

1. Зручно розташуйте пацієнта, нахиливши його голову донизу.
2. Порадьте пацієнту глибоко і повільно дихати.

БЛЮВОТА

1. Поверніть пацієнта на бік.
2. Дайте пацієнту ємність.
3. Коли блювота припиниться, допоможіть пацієнту умитися водою.
4. Повідомте лікаря.

ТРИВАЛА КРОВОТЕЧА

1. У випадку, коли кровотеча не припиняється після закінчення процедури забору крові тривалий час, натисніть на місце проколювання. Зробіть відповідний запис у направленні.
2. Запишіть час кровотечі.
3. Якщо кровотеча продовжується більше 5 хвилин, викличте лікаря.

СУДОМИ

1. Помістіть м'який шматок матеріалу, що не може бути проковтнутий, до ротової порожнини пацієнта.
2. Оберегайте пацієнта від самоушкоджень.
3. Викличте лікаря.





7.2. Зберігання та транспортування зразків крові

Організацію робіт на етапах прийому, розбору, первинної обробки матеріалу, підготовки проб, а також їхнє знезараження проводять відповідно до діючих нормативних документів України.

51

1. Загальні вимоги до зберігання зразків крові

- Зразки зберігайте при кімнатній температурі (18–25°C).
- Зразки зберігайте у темному місці.
- Зразки транспортуйте в лабораторію для дослідження якомога скоріше.
- Уникайте заморожування або перегрівання зразка.

2. Транспортування зразків в межах лабораторії

При транспортуванні зразків крові в межах однієї лабораторії:

- пробірки з набраною кров'ю закрийте гумовими пробками;
- зразки крові переміщайте у штативах у контейнерах.

3. Транспортування зразків за межами лабораторії

У кожній медичній установі визначають осіб, відповідальних за доставку зразків крові у лабораторію для здійснення досліджень з визначення кількості CD4 T-лімфоцитів.

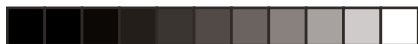
3.1. Підготовка зразків крові для відправки в лабораторію. Вимоги до умов зберігання зразків.

- Визначте, які зразки крові мають бути відправлені в лабораторію для здійснення досліджень з визначення кількості CD4 T-лімфоцитів, дату та час відправки.
- Зв'яжіться з особою, яка визначена відповідальною в закладі охорони здоров'я (ЗОЗ) за доставку зразків в лабораторію, або з кур'єрською службою для відправки зразків крові.
- Зразки крові повинні бути доставлені в лабораторію для досліджень з визначення кількості CD4 T-лімфоцитів якомога швидше.
- При зберіганні зразків крові дотримуйтесь температурного режиму. Температура при транспортуванні, зберіганні й обробці зразків крові для досліджень з визначення кількості CD4 T-лімфоцитів повинна бути 18–23°C.

Дослідження з імунофенотипування лімфоцитів рекомендовано проводити не пізніше 48 годин після забору крові за умови правильного зберігання зразка. Проте, здійснювати дослідження зразків крові на гематологічному аналізаторі (при двохплатформеній технології) необхідно не пізніше ніж через 6 годин після взяття зразка, оскільки при більш тривалому зберіганні відбувається злипання і аглютинація тромбоцитів й їхнє прилипання до нейтрофілів.

- Переконайтеся, чи вчасно працівник ЗОЗ або кур'єрської служби доставив пакувальний матеріал для зразків крові й необхідну для відправки документацію.





52

3.2. Відвантаження зразків крові

- Після прибуття працівника ЗОЗ або кур'єра, відповідального за відправку зразків, перевірте:
 - наявність пакувального матеріалу (контейнеру або іншу ємність для транспортування);
 - наявність супроводжувальної документації.
- Перевірте відповідність супроводжувальних документів, наприклад, направлення на дослідження/пакувальний аркуш(и).
- Перевірте відповідність між написами на пробірках та направленням/переліком/упаковкою. Всі зразки крові повинні бути промарковані відповідно до направлення. Зробіть та збережіть копію документації.
- Для транспортування помістіть штатив з пробірками у спеціальну сумку-холодильник або в контейнер без холодівих агентів. До контейнера/пакувальної коробки слід вкладати абсорбуючий матеріал для поглинання зразка у разі його пролиття.
- Пробірки з кров'ю мають знаходитись у вертикальному положенні.
- Уникайте заморожування або перегрівання зразків.
- Розмістіть документацію у зовнішньому кармані контейнера або на верхній частині пакувальної коробки. Ніколи не пакуйте документацію разом із зразками. Закрийте контейнер та передайте його кур'єру. Кожна партія матеріалу повинна супроводжуватись направленнями на дослідження кожного зразка згідно з формою (додаток 1).
- Повідомте фахівців лабораторії, яка має одержати зразки крові для досліджень, за телефоном про відправку зразків, а також зазначте дату і час запланованої доставки.

7.3. Вимоги до зразка

Придатність зразка

- Перевірте пробірку з кров'ю зразу ж після її доставки в лабораторію. Якщо зразок крові не має явних ознак гемолізу або заморожування, проте на дотик пробірка холодна або тепла, дослідження зразка допускається, однак необхідно зробити відмітку в реєстраційному журналі або в протоколі дослідження.
 - Дослідження зразка не здійснюється у наступних випадках:
 - а) якщо кров гемолізована або заморожена;
 - б) якщо кров має видимі згустки;
 - в) якщо зразок крові не може бути досліджений протягом 30 годин; цей термін може бути збільшений при застосуванні CD45 як інструменту ґейтування, що дозволить провести точний підрахунок відносної та абсолютної кількості Т-лімфоцитів (із застосуванням одноплатформеної технології) протягом більше ніж 48 годин;
 - г) якщо з моменту забору крові пройшло більше 72 годин.
- В усіх зазначених випадках необхідно запросити новий зразок.





7.4. Процедури прийому, обробки та утилізації зразків крові в лабораторії

53

- Зразок крові, доставлений в лабораторію для імунофенотипування, повинен бути представлений пробіркою з антикоагулянтом К2-ЕДТА або К3-ЕДТА.
- Матеріал, що надходить для дослідження, приймайте в кімнаті прийому, реєстрації, розбору і первинної обробки матеріалу, де його розбирають і сортують, дотримуючись вимог біологічної безпеки.
- Розпаковування матеріалу проводиться з дотриманням запобіжних заходів, з використанням маски і гумових рукавичок.
- Первинні транспортні контейнери або сумки-холодильники, в яких доставлено зразки, після розвантаження, обробіть дезінфікуючими розчинами, після чого поверніть їх закладу (власнику), що направив матеріал.
- При отриманні зразків крові в лабораторії перевірте їх відповідність супроводжувальним документам: направленню на дослідження/пакувальному аркушу(ам). Перевірте відповідність між написами на пробірках та направленнях/переліком/упаковкою. Зробіть та збережіть копію документації.
- Кожен зразок маркуйте відповідно до реєстраційного журналу.
- Запишіть усі зразки в Журналі реєстрації зразків крові для проведення досліджень методом проточної лазерної цитометрії (додаток 2), включаючи наступну інформацію: ПІБ пацієнта, вік, стать, вхідний номер зразка, звідки і ким направлений, час і дату забору крові й надходження в лабораторію.
- Запишіть дані щодо стану зразків цільної крові при їх отриманні.
- Перевіряйте і документуйте якість зразків, доставлених в лабораторію, і повідомляйте установи, які направили зразки крові для дослідження, у випадках некоректно отриманих зразків.
- Огляньте пробірку з кров'ю відразу після її доставки в лабораторію: якщо пробірка холодна або гаряча на дотик, але кров у ній не заморожена і не має явних ознак гемолізу, дослідження зразка допускається, однак у цьому випадку необхідно зробити відмітку в реєстраційному журналі або в протоколі дослідження. Не піддавайте зразок швидкому охолодженню чи нагріванню, оскільки це може негативно вплинути на результати імунофенотипування. Переохолодження зразка призводить до втрати кількості CD4 клітин (Т-хелперів), а перегрівання — до порушення морфології клітин.
- При огляді пробірки зі зразком для імунофенотипування зверніть увагу на цілісність пробірки, оскільки при розлитті зразка дослідження з визначення кількості CD4 T-лімфоцитів неможливо, унаслідок порушення співвідношення плазми і формених елементів крові.





54

ЗАГАЛЬНІ ЗАУВАЖЕННЯ

- Ви зобов'язані переконатися, що зразки крові доставлені в лабораторію у хорошому стані. Відправник вантажу завжди несе відповідальність за відправку.
- Якщо вище зазначені вимоги до пакування і документації вами не будуть виконані, зразки не будуть прийняті у лабораторії й не будуть здійснені.

При проведенні досліджень методом проточної лазерної цитометрії неухильно дотримуйтесь таких правил послідовної обробки матеріалу:

- Після реєстрації промарковані зразки передають на робочі місця для підготовки матеріалу для дослідження методом проточної лазерної цитометрії, де проводять їх первинну обробку.
- При роботі з кров'ю в режимі ручної пробопідготовки використовують тільки окремі одноразові наконечники.
- При роботі з кров'ю важливо не здійснювати різких рухів, обережно відкривати пробірки, флакони, враховуючи можливість аерозольних викидів і ймовірність розлиття крові.
- Результати досліджень оформляють і зберігають в журналі (додаток 2).
- За результатами аналізу видають відповідь про кількість CD3, CD4 лімфоцитів.
- При проведенні досліджень суворо дотримуються умов зберігання усіх реагентів згідно з інструкцією про їх застосування. Не допускається використання реагентів, що зберігалися у невідповідних умовах, і після закінчення терміну їх придатності.
- Після закінчення роботи всі реагенти прибирають у сховища (холодильники, шафи тощо), після чого робочі поверхні піддають дезінфекції.
- Залишки біологічного матеріалу і посуд, використаний на етапах підготовки проб, збирають в промарковані ємкості з дезрозчинами, що щільно закриваються, і після відповідної експозиції утилізуються.
- Пробірки з кров'ю, що залишилися після первинної обробки крові, передають в автоклавну.

Зливання рідин в каналізаційну мережу без знезараження не допускається.

7.5. Підготовка зразків для аналізу методом проточної лазерної цитометрії

Процес підготовки зразку для імунофенотипування включає в себе інкубацію крові (суспензії лейкоцитів) і моноклональних антитіл, лізис еритроцитів і фіксацію.

7.5.1. Загальні рекомендації при здійсненні підготовки зразка для аналізу

1. До початку підготовки проб до аналізу зберігайте зразки крові при температурі 20–25°C. Неприпустимим є заморожування зразків.
2. Виконуйте аналіз зразку протягом 48 годин (бажано), але не пізніше 72 годин після забору крові.

