

---

## KNOWLEDGE OF ANALYTICAL PRINCIPLES IN LABORATORY HEMATOLOGY AND THEIR RELATION TO THE MOST COMMON ERRORS IN THE PRE- ANALYTICAL STAGE

**Ivelina Dobрева**

Trakia University –Medical College, Stara Zagora, Republic of Bulgaria, [ivelinadob@abv.bg](mailto:ivelinadob@abv.bg)

**Pavlina Teneva**

Trakia University –Medical College, Stara Zagora, Republic of Bulgaria, [pl.teneva@abv.bg](mailto:pl.teneva@abv.bg)

**Abstract:** Analytical principles in the clinical laboratory have been adopted by the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, the Institute for Clinical and Laboratory Standards, the International Committee for Standardization. They are described and approved as an appendix to the Medical Standard "Clinical Laboratory" by regulation of the Minister of Health.

The main goal of laboratory tests is to obtain reliable results, which are a real assessment of the true values and bring useful information about the patients state of health. The reliability of a laboratory result is a function of a large number of factors that, by different mechanisms, influence the final result. These factors are grouped in several directions, one of them includes before the analytical stage in which they fall - taking, storing and transporting the biological material.

One of the most common mistakes when obtaining the biological material for hematological studies is clotted blood. Blood for blood count or hematological tests is taken with monovet with anticoagulant EDTA, keeping a certain blood-anticoagulant ratio, well mixed. The biological material thus obtained is examined with the help of a hematological analyzer or a counter for blood pictures- the concentration of hemoglobin, the number of blood cells in a volume of blood, etc. is examined. The analytical principles of these analyzers imply the use of properly taken biological material, clotted blood gives inaccurate results, there is also a risk of blocking the analyzer.

**Keywords:** analytical principles, stages, results.

## ПОЗНАВАНЕ НА АНАЛИТИЧНИ ПРИНЦИПИ В ЛАБОРАТОРНАТА ХЕМАТОЛОГИЯ И ВРЪЗКАТА ИМ С НАЙ-ЧЕСТИТЕ ГРЕШКИ В ПРЕДАНАЛИТИЧНИЯ ЕТАП

**Ивелина Добрева**

Тракийски университет – Медицински колеж Стара Загора, [ivelinadob@abv.bg](mailto:ivelinadob@abv.bg)

**Павлина Тенева**

Тракийски университет – Медицински колеж Стара Загора, [pl.teneva@abv.bg](mailto:pl.teneva@abv.bg)

**Резюме:** Аналитичните принципи в клиничната лаборатория са възприети от Международната федерация по клинична химия и лабораторна медицина, Института за клинични и лабораторни стандарти, Международния комитет по стандартизация. Описани са и утвърдени като приложение към Медицински стандарт „Клинична лаборатория“ с наредба от министъра на здравеопазването.

Основната цел на лабораторните изследвания е получаването на достоверни резултати, които са реална оценка на истинските стойности и носят полезна информация за здравословното състояние на пациента. Достоверността на лабораторния резултат е функция от голям брой фактори, които по различни механизми оказват влияние върху крайния резултат. Тези фактори се групират в няколко направления, едно от тях включва преаналитичния етап в който попадат – вземане, съхраняване и транспортиране на биологичния материал.

Една от най-честите грешки при получаване на биологичния материал за хематологични изследвания, това е съсирена кръв. Кръв за кръвна картина или хематологични изследвания се взима с моновета с антикоагулант ЕДТА като се спазва определено съотношение кръв-антикоагулант, добре размесена. Така получения биологичен материал се изследва с помощта на хематологичен анализатор или брояч за кръвни картини – изследва се концентрация на хемоглобин, брой кръвни клетки в обем кръв и др. Аналитичните принципи на тези анализатори предполагат използването на правилно взет биологичен материал, съсирената кръв дава неточни резултати, има риск и от запушване на анализатора.

**Ключови думи:** аналитични принципи, етапи, резултати.

## 1. ВЪВЕДЕНИЕ

Аналитичните принципи в клиничната лаборатория са възприети от Международната федерация по клинична химия и лабораторна медицина, Института за клинични и лабораторни стандарти, Международния комитет по стандартизация. Описани са и утвърдени като приложение към Медицински стандарт „Клинична лаборатория“ с наредба от министъра на здравеопазването.

Основната цел на лабораторните изследвания е получаването на достоверни резултати, които са реална оценка на истинските стойности и носят полезна информация за здравословното състояние на пациента.

Около 60%–70% от клиничните решения относно приемане, лечение и изписване на пациента се основават на лабораторни резултати. Тъй като те играят значителна роля, трябва да се отдаде по-голямо значение на качеството на лабораторните тестове (Abdollah et al, 2014).

Правилното вземане на кръв и навременната обработка са критични преаналитични стъпки, необходими за достоверността на лабораторния резултат (Bowen & Remaley, 2014; Lippi et al, 2019).

Достоверността на лабораторния резултат е функция от голям брой фактори, които по различни механизми оказват влияние върху крайния резултат. Тези фактори се групират в няколко направления, едно от тях включва преаналитичния етап в който попадат – биологични фактори, подготовка на пациента, вземане, съхраняване и транспортиране на биологичния материал, подготовка на материала за изследване. Една от най-честите грешки при получаване на биологичния материал за хематологични изследвания, това е съсирена кръв.

Кръв за кръвна картина или хематологични изследвания се взема с моновета с аникоагулант Етилендиаминтетраоцетна киселина (EDTA), като е необходимо да се спази определено съотношение кръв-антикоагулант и да бъде добре размесена. Така получения биологичен материал се изследва с помощта на хематологичен анализатор или брояч за кръвни картини. Изследва се концентрация на хемоглобин, брой кръвни клетки в обем кръв и др. Аналитичните принципи на тези анализатори предполагат използването на правилно взет биологичен материал, съсирената кръв дава неточни резултати, има риск и от запушване на анализатора.

Автоматичното броене на кръвни клетки осигурява много добра възпроизводимост и точност на резултатите. Извършва се посредством два основни принципа: кондуктометричен, принцип на електрично съпротивление и принцип с разсейване на светлината. Кондуктометричен принцип – основава се на разликата между проводимостта на клетките и използвания за суспендирането им електролитен разтвор, преминавайки през капилярен отвор, те предизвикват промени в електричното съпротивление. Промените в постоянното електрично съпротивление са пропорционални на общия обем на клетката, а промените в радиочестотния сигнал са пропорционални на обема на ядрото на клетката. При преминаването на високочестотен електричен ток през клетката може да се измери отношението ядро/цитоплазма. Двете различни качества на клетките – съпротивлението и проводимостта, могат да се използват за изграждането на двупосочна цитограма, а също и на петтипно диференциране на левкоцитите.

При хематологичните анализатори на принцип с разсейване на светлина – електронно-оптичен, клетките преминават през проточна кювета като предизвикват дифракция на напречно насочен светлинен лъч. Тази светлина попада във фотоумножител, превръща се в електрически импулс, който се регистрира.

При така описаните принципи на хематологичните анализатори, става ясно, че използвания биологичен материал трябва стриктно да отговаря на изискванията – да не е съсирена кръвта, да няма хемолиза, да е спазено съотношението кръв-антикоагулант и да е използван точния антикоагулант. (Пенев & Дукова-Пенева, 2007).

## 2. ЦЕЛ

Целта на нашето проучване е да представим най-честите причини, които биха довели до отхвърляне на пробата и непригодността и да бъде изработена с хематологичен анализатор.

## 3. ДИСКУСИЯ

Най-честите причини за неправилно взета кръв за определяне на хематологични показатели могат да бъдат групирани по следния начин:

### **Недостатъчен или неподходящ обем на пробата**

Проблемът с недостатъчния обем кръв за изследване обикновено може да бъде разделен на две категории, при които липсващото количество кръв може да бъде абсолютно или относително.

Въпреки, че съвременната лабораторна апаратура използва много малки количества кръв, серум или плазма (т.е. обикновено между 2 и 20  $\mu\text{L}$  на тест), все пак е необходим минимален обем за автоматична обработка

на пробите. Когато в лабораторията се получи моноета с много малко количество кръв, е необходимо да се поиска повторно вземане на кръв от пациента (Lippi et al, 2019; Lippi et al, 2007).

Във вторият случай, когато моноетата за кръв е недостатъчно напълнена, но общото количество кръв е достатъчно за извършване на всички изисквани диагностични тестове, проблемът обикновено е по-сложен и клинично предизвикателен. Някои автори описват, че ако 75% от обема на епруветки съдържащи добавки като, етилендиаминтетраоцетна киселина (EDTA), може много рядко да се генерира клинично значимо отклонение и само за много ограничен брой тестове (Xu et al, 2010).

#### **Грешен контейнер (епруетка за кръв)**

Лабораторното изследване включва анализ на специфични биологични материали, които често са различни според различните видове изследвания. Например хематологичното изследване изисква проби, задължително взети с антикоагулант EDTA. Въпреки че епруетките за събиране на кръв може да се различават при различните производители, събирането на подходяща проба за тестване е конвенционално улеснено чрез приемането на различни цветове на капачките. Цветовото кодиране на моноетите, има за цел да улесни визуалното им разпознаване от медицинските лаборанти и здравни специалисти, които са ангажирани с вземането на проби кръв.

Най-често в аналитичните методи на лабораторната хематология се използва пълна кръв. Заради това в момента на получаването кръвта трябва да се смеси с антикоагулант. Използват се соли на EDTA – Na<sub>2</sub>EDTA, K<sub>2</sub>EDTA, K<sub>3</sub>EDTA.

Солите на EDTA образуват с калциевите йони в кръвта хелати и по този начин блокират процеса на кръвосъсирването. Засега това се счита за най-добрият антикоагулант за хематологични анализи. K<sub>2</sub>EDTA и K<sub>3</sub>EDTA са по-лесно разтворими от Na<sub>2</sub>EDTA. Според препоръките на ICSH (Международен съвет по стандартизация в хематологията) най-добри резултати се получават с K<sub>2</sub>EDTA. Оптималната концентрация на антикоагуланта е 1,5-2,2 mg/ml. По-високи концентрации на антикоагуланта действат хипертонично и еритроцитите се сбръчкват. EDTA инхибира активността на алкалната фосфатаза, креатинкиназа и левцин аминопептидазата.

#### **Съсирена кръв**

Друга основна причина за отхвърляне на моноетата за хематологичен анализ е съсирената кръв. Наличието на съсиреци в кръвта повлиява изключително много на броя на тромбоцитите, които са уловени в съсирека. При работа със съсирена кръв на хемоанализатор рискуваме да се аспирира съсирека и да бъде запушен апарата. Честата причина за съсирване на кръвта е недостатъчното размесване на кръвта с EDTA веднага след като моноетата е напълнена (Arul et al, 2018; HarsimranKaur et al, 2016).

Наличието на съсиреци в пробите от EDTA може да се обясни също и с неправилно съотношение кръв към антикоагулант, когато количеството на кръвта е повече от обозначеното на моноетата (Ashavaid et al, 2009). Наличието на микросъсиреци може да бъде установено при изготвянето на кръвна натривка за диференциално броене на левкоцити и морфология на кръвните клетки.

#### **Наличие на течности за интравенозно приложение**

Интравенозните течности са потенциален източник на замърсяване при вземане на кръв. В ситуации, в които пациентът получава интравенозни течности, за предпочитане е да се използва противоположната ръка за венепункция. Ако не е възможно да се вземе кръв от другата ръка, банката за интравенозно приложение трябва да бъде изключена за не по-малко от 2 минути (в зависимост от веществото, което се влива) преди вземането на кръв. След като бъде изключена интравенозната течност, турникетът може да се постави под мястото на интравенозно въвеждане и да се вземе кръв. Дори при тези предпазни мерки първите 5 до 10 ml изтеглена кръв трябва да се изхвърлят, за да се избегне потенциално замърсяване с интравенозна течност (Carini et al, 2022; Upreti et al, 2013).

#### **4. ИЗВОДИ**

- Качеството на получените кръвни проби остава основен фактор за качеството на целия процес на тестване, който от своя страна ще доведе забавяне на диагностиката, пропуснати или грешни диагнози;
- Вземането на биологичен материал като процедура от преданалитичната фаза е най-уязвимата част от целия процес на работа и се счита за едно от най-големите предизвикателства пред лабораторните специалисти;
- Институтът за клинични лабораторни стандарти (CLSI) е издал няколко стандарта, свързани с вземането на кръвни проби и транспортирането пробите. Спазването на тези насоки обаче е ниско, особено в случаите, когато кръвта се взема извън лабораторията и без прякото наблюдение на лабораторния персонал.

**ИЗПОЛВАНА ЛИТЕРАТУРА**

- Abdollahi, A., Saffar, H., & Saffar, H. (2014). Types and Frequency of Errors during Different Phases of Testing At a Clinical Medical Laboratory of a Teaching Hospital in Tehran, Iran. *North American journal of medical sciences*, 6(5), 224–228. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.132941>
- Ashavaid, T. F., Dandekar, S. P., Khodajji, S., Ansari, M. H., & Singh, A. P. (2009). Influence of method of specimen collection on various preanalytical sample quality indicators in EDTA blood collected for cell counting. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*, 24(4), 356–360. <https://doi.org/10.1007/s12291-009-0064-4>
- Arul P, Pushparaj M, Pandian K, Chennimalai L, Rajendran K, Selvaraj E, Masilamani S. (2018). Prevalence and types of preanalytical error in hematology laboratory of a tertiary care hospital in South India. *J Lab Physicians*. 2018 Apr-Jun;10(2):237-240. doi: 10.4103/JLP.JLP\_98\_17. PMID: 29692594; PMCID: PMC5896195.
- Bowen, R. A., & Remaley, A. T. (2014). Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochemia medica*, 24(1), 31–44. <https://doi.org/10.11613/BM.2014.006>
- Carini, M., Micheletti, M., Martellosio, G., Caravaggi, E., Portesi, N., Biasiotto, G., Marini, M., Brugnioni, D., & Serana, F. (2022). A case of discrepant laboratory results in samples obtained from a central venous catheter and peripheral veins: when solving a pre-analytical mystery could improve patient care. *Biochemia medica*, 32(3), 031001. <https://doi.org/10.11613/BM.2022.031001>
- Cornes, M., van Dongen-Lases, E., Grankvist, K., Ibarz, M., Kristensen, G., Lippi, G., Nybo, M., Simundic, A. M., & Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE), European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) (2017). Order of blood draw: Opinion Paper by the European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 55(1), 27–31. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0426>
- HarsimranKaur, V. N., Selhi, P. K., Sood, N., & Singh, A. (2016). Preanalytical Errors in Hematology Laboratory- an Avoidable Incompetence. *Iranian journal of pathology*, 11(2), 151–154.
- Lippi, G., von Meyer, A., Cadamuro, J. & Simundic, A. (2019). Blood sample quality. *Diagnosis*, 6(1), 25-31. <https://doi.org/10.1515/dx-2018-0018>
- Lippi, G., Banfi, G., Buttarello, M., Ceriotti, F., Daves, M., Dolci, A., Caputo, M., Giavarina, D., Montagnana, M., Miconi, V., Milanese, B., Mosca, A., Morandini, M., & Salvagno, G. L. (2007). Recommendations for detection and management of unsuitable samples in clinical laboratories. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 45(6), 728–736. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2007.174>
- Simundic, A. M., Bölenius, K., Cadamuro, J., Church, S., Cornes, M. P., van Dongen-Lases, E. C., Eker, P., Erdeljanovic, T., Grankvist, K., Guimaraes, J. T., Hoke, R., Ibarz, M., Ivanov, H., Kovalevskaya, S., Kristensen, G. B., Lima-Oliveira, G., Lippi, G., von Meyer, A., Nybo, M., De la Salle, B., ... Vermeersch, P. (2019). Recommendations communes EFLM-COLABIOCLI relatives au prélèvement sanguin veineux [Joint EFLM-COLABIOCLI recommendation for venous blood sampling]. *Annales de biologie clinique*, 77(2), 131–154. <https://doi.org/10.1684/abc.2019.1419>
- S., Upreti, S., Bansal, R., Jeelani, N., & Bharat, V. (2013). Types and frequency of preanalytical errors in haematology lab. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 7(11), 2491–2493. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/6399.3587>
- Xu, M., Robbe, V. A., Jack, R. M., & Rutledge, J. C. (2010). Under-filled blood collection tubes containing K2EDTA as anticoagulant are acceptable for automated complete blood counts, white blood cell differential, and reticulocyte count. *International journal of laboratory hematology*, 32(5), 491–497. <https://doi.org/10.1111/j.1751-553X.2009.01211.x>
- Пенев, М., & Дукова-Пенева, П. (2007). *Лаборна хематология*. София: Артик