

На правах рукописи

ПISКУНОВ

Дмитрий Павлович

**ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТНОГО ФАКТОРА
НА КАЧЕСТВО ПРОВЕДЕНИЯ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА
БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

3.1.31 – геронтология и гериатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации

на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Санкт - Петербург – 2022

Работа выполнена в лаборатории возрастной клинической патологии отдела клинической геронтологии и гериатрии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» и СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница №2»

Научный руководитель:

доктор биологических наук, доцент
Пушкин Александр Сергеевич

Официальные оппоненты:

Булгакова Светлана Викторовна – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой гериатрии и возрастной эндокринологии

Лянг Ольга Викторовна - доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», профессор кафедры госпитальной терапии с курсом эндокринологии, гематологии и клинической лабораторной диагностики

Ведущая организация: Академия постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»

Защита диссертации состоится «__» _____ г. в _____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 75.2.020.01 при АННО ВО НИЦ «Санкт - Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» по адресу: 197110, Санкт - Петербург, пр. Динамо, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте АННО ВО НИЦ «Санкт - Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» <https://gerontology.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 75.2.020.01,
доктор биологических наук,
профессор



Козина Людмила Семеновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Геронтологические аспекты преаналитического этапа биохимических исследований важны для понимания ключевых закономерностей биологических процессов, влияющих на качество диагностики и достоверность полученных результатов.

Частое коморбидное состояние лиц старшей возрастной группы обуславливает сложности дифференциальной диагностики многих заболеваний. Возникает необходимость проведения целого ряда исследований. Исследования биохимических показателей крови в значительной степени оказывают влияние на принятие клинических решений [Lippi G., Plebani M., 2015]. С возрастанием важности персонализированной медицины именно исследования биологических показателей имеют жизненно важное значение для диагностики, прогнозирования и терапевтического мониторинга заболеваний человека [Lippi G., Bassi A., Vovo S., 2016]. Так, результаты биохимического анализа крови необходимы для оценки состояния различных биосистем организма, а недостоверные результаты могут привести к ошибкам лечения. Несмотря на успехи, которые позволили достичь более высокого уровня качества диагностического обследования, многие проблемы по-прежнему остаются нерешенными, особенно на преаналитическом этапе исследования крови: от получения биологического материала, его хранения и до его транспортировки в лаборатории [Lippi G., Bowen R., Adcock D. M., 2016].

Необходимо учитывать тот факт, что возраст человека, являясь основополагающим эндогенным биологическим фактором, а также условия транспортировки и хранения биологических образцов по-разному влияют на достоверность результата исследования. В 2021 году Европейская федерация клинической химии и лабораторной медицины (EFLM) опубликовала рекомендации по типам образцов и биологической стабильности в различных условиях, однако влияние возрастного фактора там практически не упоминается [Cornes M. et al., 2021].

Работа по сбору данных о влиянии биологических факторов на преаналитический этап проводится во многих странах Европейского союза [Cornes M. et al., 2016]. Также разрабатываются и принимаются соответствующие национальные руководящие принципы, однако геронтологические аспекты в данных руководствах не обозначаются, что не дает полного представления об управлении качеством преаналитического этапа.

Свой вклад в проблему качества преаналитического этапа вносит и централизация исследований, при которой биологические образцы транспортируются на дальние расстояния и хранятся длительное время перед началом аналитического этапа. Это стало особенно актуально в условиях пандемии COVID-19 по причине возрастающего потока образцов, транспортируемых для исследований в централизованные учреждения.

В настоящее время в России 15% населения составляют лица 65 лет и старше [Russia - Age distribution 2019]. Численность данной категории населения имеет положительную динамику роста на протяжении десятилетия. Согласно докладу, выпущенному Всемирной организацией здравоохранения (30.09.2015), ожидается удвоение числа пожилых людей к 2050 г. В связи с этим все больше возрастает биологическая роль возраста как одного из ведущих факторов, влияющих на качество и достоверность получаемого результата лабораторного исследования. Однако в доступной

литературе отсутствует однозначное мнение о влиянии возрастного фактора на стабильность биохимических веществ и его влиянии на преаналитический этап лабораторного исследования, что представляет научный и практический интерес.

Цель исследования: оценка влияния возрастного фактора на качество преаналитического этапа исследований биологических веществ в венозной крови человека.

Задачи исследования

1. Изучить влияние возрастного фактора на биологическую стабильность веществ крови при биохимическом анализе с учетом временного и температурного режимов хранения образцов (экзогенных факторов).
2. Выявить влияние эндогенных факторов (характеристик клеток крови) на стабильность концентрации исследуемых веществ в различных возрастных группах.
3. Оценить влияние возраста человека на долю гемолизированных образцов крови в рутинной практике клинико-диагностической лаборатории.
4. Определить экономическую эффективность внедрения учета влияния возраста при проведении преаналитического этапа у лиц пожилого и старческого возраста.
5. Разработать и внедрить методические рекомендации по проведению преаналитического этапа биохимических исследований венозной крови у людей пожилого и старческого возраста в практическую работу.

Научная новизна исследования

В рамках диссертационной работы впервые рассмотрено влияние возрастного фактора на качество проведения преаналитического этапа исследований биологических веществ в венозной крови человека, что позволит существенно дополнить представления о данном этапе исследования.

Впервые установлено, что клинически значимые изменения уровня глюкозы (RCV 95%) у лиц среднего и пожилого возраста наступают при хранении проб в течение 24 ч при температуре 4°C, в то время как у людей старческого возраста клинически значимых изменений в тех же условиях хранения не наступает.

Впервые выявлено, что клинически значимое изменение (увеличение) уровня калия у лиц старческого возраста наступает при хранении проб в течение 24 ч при температуре 40°C, однако у лиц среднего и пожилого возраста клинически значимых изменений уровня калия не происходит в аналогичных условиях хранения образцов.

Доказано, что у людей в возрасте от 75 лет и старше гемолизированных проб больше в среднем на 51,5% по сравнению с людьми среднего возраста, что связано с совокупностью факторов: более сложной процедурой венепункции у лиц старческого возраста ввиду более хрупких вен, коморбидности этой группы людей. Учет индивидуальных особенностей вен людей старшей возрастной группы и подбор игл способны уменьшить количество гемолизированных проб.

Впервые был проведен экономический анализ финансовых потерь при выбраковке биологических образцов в процессе обследования людей старших возрастных групп. Была показана необходимость внедрения методических рекомендаций по подбору игл для венепункции у лиц старших возрастных групп. Указанное внедрение позволяет сократить затраты на расходные материалы для флеботомии, снизить болевые ощущения у пациента, уменьшить риски заражения пациента и персонала возбудителями гемоконтактных

инфекций, повысить качество взятого биологического материала, что минимизирует искажение результата исследования.

Научно - практическая значимость работы

Проведенное исследование впервые показало *статистически* значимые отличия смещения уровня глюкозы в крови у пациентов разных возрастов при длительном хранении образцов. Так, у людей в возрасте от 35 до 59 лет смещение уровня глюкозы составляет в среднем 17% при хранении образцов при $t^{\circ} = 4^{\circ}\text{C}$ в течении 24 часов. В то же время, у людей в возрасте от 75 лет и старше смещение уровня глюкозы составляет 9,4% при аналогичных условиях хранения образцов; кроме того, показано значение влияния биосистемы клеток крови на изменение уровня глюкозы в образце. В совокупности эти данные позволили создать программу для ЭВМ с функцией прогнозирования уменьшения уровня глюкозы в биологическом образце в зависимости от возраста в процессе хранения при $t^{\circ} = 4^{\circ}\text{C}$. Информация о величине смещения уровня глюкозы в биологическом образце необходима для принятия решения о достоверности получаемого результата с точки зрения клинически значимой разницы уровня показателя. Данный метод следует принимать во внимание в условиях со сложной логистикой, где нет возможности провести аналитический этап исследований в ближайшие минуты после взятия крови.

В ходе работы были получены данные о большем количестве гемолизированных проб у лиц старше 75 лет по сравнению с лицами средней возрастной группы. Так, у лиц в возрасте от 21 года до 34 лет гемолизированные образцы составляют в среднем 0,85%, в то время как у лиц старческого возраста количество таких проб составляет 1,75%. Также разработана и внедрена методика по индивидуальному подбору игл для венепункции у лиц пожилого и старческого возраста, позволяющая снизить количество гемолизированных проб у людей старших возрастных групп. Применение методики позволило сократить количество гемолизированных проб на 40,3%

Внедрение разработанной методики венепункции у лиц пожилого и старческого возраста позволило достичь экономической выгоды в среднем на 1,2% в год за счет сокращения использования расходных материалов при повторных процедурах флеботомии в связи с некачественными образцами крови.

Таким образом, полученные результаты исследования вносят вклад в улучшение качества преаналитического этапа биохимических исследований биологических образцов людей пожилого и старческого возраста.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У лиц среднего, пожилого и старческого возраста продолжительность и температура хранения образцов сыворотки крови оказывают *клинически* значимое влияние на исследуемые вещества при температурах от 4°C до 30°C и времени хранения от 4 ч до 72 ч. *Клинически* значимое изменение (уменьшение) уровня глюкозы составляет 17,09% у лиц среднего возраста и наступает при хранении проб в течение 24 ч при температуре 4°C , в то время как у людей старческого возраста изменение (уменьшение) уровня глюкозы составляет 9,4% при аналогичных условиях хранения, что *клинически* значимым не является (RCV 95% -17%). В то же время, *клинически* значимое изменение (увеличение) уровня калия у лиц старческого возраста составляет 13,8% (RCV 95% - 13,6%) при хранении проб в течение 24 ч при температуре 4°C , однако у лиц среднего и пожилого возраста *клинически* значимых изменений уровня калия не наступает в аналогичных условиях хранения образцов.

2. Возраст является основополагающим эндогенным фактором, влияющим на химический состав биологического образца при его хранении. У людей старческого возраста в образцах крови уровень глюкозы на 45% выше при хранении в течение 24 ч при температуре 4⁰С по сравнению с показателями у лиц среднего возраста.

3. У лиц старческого возраста количество гемолизированных биологических проб больше в среднем на 48,5% по сравнению с аналогичным показателем у лиц среднего возраста. При этом отличие в количестве гемолизированных образцов у лиц пожилого возраста по сравнению со средним возрастом статистически не значимо.

4. Применение индивидуального подбора игл для венепункции у лиц пожилого и старческого возраста приводит к уменьшению затрат на расходные материалы при назначении повторных исследований и снижению количества флеботомий в связи с гемолизом образцов сыворотки крови.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность и обоснованность полученных результатов научной работы обеспечена детальным теоретическим анализом проблемы, репрезентативным объемом выборок изученного материала, достаточным количеством проведенных исследований эндогенных и экзогенных факторов влияния на преаналитический этап и адекватным статистическим анализом полученных данных. Сформированные выборки были репрезентативны по количеству и могли использоваться для решения поставленных задач. Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на Всероссийском научном форуме студентов и молодых ученых «Студенческая наука 2018», на Всероссийской научно–практической конференции с международным участием «Профессиональная стандартизация в подготовке и деятельности специалистов со средним медицинским образованием», на IV Российском конгрессе лабораторной медицины, на международном научном конгрессе «Многопрофильная клиника XXI века. Инновации в медицине – 2019», на междисциплинарной конференции с международным участием «Критические значения лабораторных показателей неотложных состояний пациентов», на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины и геронтологии – 2022».

Также за данную работу присуждена победа на конкурсе грантов для студентов, аспирантов ВУЗов, отраслевых и академических институтов, расположенных на территории Санкт-Петербурга.

Внедрение результатов исследования в практику

Отдельные положения и выводы диссертации учтены при организации и проведении преаналитического этапа биохимических исследований у пациентов пожилого и старческого возраста в СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница №2». Так, внедрение внутреннего аудита качества преаналитического этапа у пациентов пожилого и старческого возраста в лаборатории СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница №2» способствовало уменьшению количества гемолизированных проб, повышению качества выполнения венепункции и, как следствие, большей экономической эффективности.

Личный вклад автора

Автором определены цель и задачи исследования, проанализирована отечественная и зарубежная литература по изучаемой проблеме, разработаны методические подходы к проведению исследования. Автор производил сбор данных, их обработку, а также

обобщение полученных материалов. Автором подготовлены публикации по выполненной работе, также написана и оформлена рукопись.

Связь с научно-исследовательской работой института

Диссертационная работа выполнена по основному плану научно-исследовательской работы Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

Публикация результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, включая 6 опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации, в том числе 1 статья в издании, индексируемом базой данных Scopus. Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2021669975 «Программа для учета влияния возрастного эндогенного фактора на стабильность биохимического анализа – глюкозы».

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 126 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, описания результатов собственных исследований, выводов, библиографического указателя литературы, содержащего ссылки на 126 работ, в том числе 6 на русском и 120 на английском языках. Работа иллюстрирована 5 рисунками и 22 таблицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на базе клиничко-диагностической лаборатории СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница №2». Для работы было исследовано 58136 образцов крови людей в возрасте от 21 года до 94 лет, проходивших плановое лечение в стационаре.

Критериями исключения являлись диабет, онкологические и аутоиммунные заболевания.

- I. Исследование оценки влияния возрастного фактора на стабильность биологических веществ в венозной крови с учетом температурного и временного режимов хранения образцов проведено в два этапа:
 1. Исследование изменений уровня биохимических веществ крови при различных условиях хранения биоматериала с учетом *клинической* значимости (сравнение величин критической разницы (Reference Change Value – RCV)).
 2. Исследование влияния возраста человека на уровень биохимических веществ в крови при хранении биоматериала, анализ *клинической* значимости (RCV), так как величина статистической значимости не всегда оказывает влияние на принятие клинических решений.
- II. Исследование оценки влияния эндогенных факторов (характеристик клеток крови) на стабильность концентрации глюкозы в различных возрастных группах проведено в два этапа:
 1. Исследование корреляционной зависимости влияния гематологических показателей на изменения уровня глюкозы.

2. Сравнительный *статистический* анализ смещений уровня глюкозы при разделении общей выборки проб на 3 равные части (терцели) в зависимости от величины каждого исследуемого показателя (таблица 14).
- III. Оценка влияния возрастного фактора на количество гемолизированных проб, поступающих в стационар, проведена в четыре этапа:
1. Анализ количества гемолизированных проб аппаратным и визуальным методом для определения приемлемого метода детекции.
 2. Исследование влияния возрастного фактора на количество гемолизированных проб.
 3. Ретроспективная оценка влияния возраста на количество проб с критическими значениями уровня калия (K⁺) и натрия (Na⁺) как одних из наиболее чувствительных к гемолизу исследуемых веществ.
 4. Оценка эффективности разработанных методических рекомендаций по индивидуальному подбору игл для венепункции у лиц пожилого и старческого возраста.

Биохимические исследования проведены на автоматическом биохимическом анализаторе Abbott Architect c8000 реактивами производителя оборудования.

Гематологические исследования проведены на автоматическом гематологическом анализаторе Abbott CELL-DYN Ruby реактивами производителя оборудования.

I. Оценка влияния возраста на стабильность биологических веществ в венозной крови с учетом температурного и временного режимов хранения образцов (экзогенных факторов)

Оценка влияния возрастного фактора на стабильность биологических веществ в венозной крови проведена в 2 этапа.

1. На первом этапе отобрано 60 образцов крови от 30 человек в возрасте от 40 до 94 лет (по 2 образца от одного человека отбиралось для достаточного объема сыворотки, позволяющем обеспечить дизайн исследования в надлежащие сроки), проходивших плановое лечение в стационаре. Образцы для достижения цели исследования разделили на две группы: 1-я группа — образцы сыворотки алиquotировали и исследовали согласно протоколу; 2-я группа — образцы сыворотки исследовали без алиquotирования (клеточный компонент не отделялся).

Данные, полученные при первом исследовании, приняты за нулевую точку. Затем образцы были помещены в соответствующие температурные условия (4°C, 23°C и 30 °C). По прохождению 4, 24, 48, 72 ч для 1-й группы и 4, 8, 24, 48 ч для 2-й группы проводили измерение следующих веществ в пробах: АСТ, АЛТ, глюкоза, билирубин общий, ЛДГ, креатинин, КФК, мочевины, калий, натрий, хлориды, триглицериды, фосфатаза щелочная, общий белок, холестерин.

Оценка *клинической* значимости изменений уровня концентрации веществ выполнена на основании сравнения величин критической разницы (Reference Change Value – RCV). RCV рассчитывался по следующей формуле: $RCV = \sqrt{2} \times Z \times \sqrt{CVa^2 + CVi^2}$, где CVa – долгосрочный коэффициент вариации исследуемых веществ (260 точек), полученный из данных внутрилабораторного контроля, а CVi – коэффициент внутрииндивидуальной биологической вариации для исследуемого

вещества [Steindel, Howanitz, 2001]. Z – уровень доверительной вероятности, для 95% = 1,96. (80% = 1,28) Данные, по которым вычислялся RCV, представлены в таблице 1.

Таблица 1. – RCV для исследуемых веществ

Вещество	CV (долгосрочный), %	CV внутри индивидуальный*	RCV 95%, %	RCV 80%, %
АЛТ	3,1	19,4	54,4	35,6
АСТ	2,3	12,3	34,7	22,7
Билирубин общий	4,1	21,8	61,5	40,2
Глюкоза	2,5	5,6	17,0	11,1
Калий	1,7	4,6	13,6	8,9
Креатинин	2,8	6,0	18,3	11,9
КФК	2,4	22,8	63,5	41,5
ЛДГ	4,0	8,6	26,3	17,2
Мочевина	3,1	12,1	34,6	22,6
Натрий	1,4	0,6	4,3	2,8
Общий белок	1,3	2,8	8,4	5,5
Триглицериды	1,7	20,0	55,4	36,2
Фосфатаза щелочная	3,9	6,5	20,9	13,6
Хлор	2,9	1,2	8,6	5,6
Холестерин	1,3	6,0	16,9	11,1

*<http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>

После получения результатов исследования для оценки изменения уровня концентрации веществ был проведен анализ с использованием формулы для определения *статистической* погрешности в показаниях средства измерения: $V = (X_i - ЦЗ) / ЦЗ \times 100\%$, где V смещение, X_i – значение концентрации исследуемого вещества у каждого человека, ЦЗ – целевое значение. В данном случае за ЦЗ принималось значение показателя каждого человека в нулевой точке измерения.

2. На втором этапе проведено исследование для оценки влияния возрастного фактора на стабильность веществ сыворотки крови, которые были наиболее подвержены влиянию факторов времени и температуры при хранении.

Для достижения цели исследования были сформированы 3 группы по 40 образцов согласно возрасту каждого человека: группа 1 – образцы венозной крови людей в возрасте от 35 до 59 лет (средний возраст II половина); группа 2 – образцы венозной крови людей в возрасте от 60 до 74 лет (пожилой возраст); группа 3 – образцы венозной крови людей старше 75 лет (старческий возраст).

Сразу после центрифугирования в образцах венозной крови были измерены уровни калия и глюкозы (данные тесты отобраны на основании результатов предыдущего этапа исследования), эти данные приняты за нулевую точку измерений. Затем образцы были разделены на группы согласно температурным условиям хранения +4°C и +23°C (на втором этапе исследования температурные условия в 30°C не исследовались ввиду полученных данных на первом этапе), соответственно.

После 24 и 48 часов хранения проводили измерения уровня глюкозы и калия в пробах.

Затем провели оценку клинической значимости (RCV) смещения уровня глюкозы в разных возрастных группах.

II. Оценка влияния эндогенных факторов на уровень концентрации биологических веществ в пробах крови людей различных возрастных групп

При исследовании влияния эндогенных факторов на уровень концентрации веществ в пробах сыворотки крови различных возрастных групп на примере глюкозы (как показателя, наиболее подверженного влиянию экзогенных факторов) было отобрано 115 образцов крови от людей в возрасте от 21 до 90 лет, находившихся на плановом лечении в стационаре СПб ГБУЗ «ГМПБ №2». Исследование включало два этапа:

1. На первом была проведена оценка корреляционной зависимости влияния гематологических показателей на изменения уровня глюкозы. Для оценки влияния использовались стандартные гематологические параметры (СОЭ, WBC, NEUT, NEUT%, LYM, LYM%, MON, MON%, EOS, EOS%, BAS, BAS%, HBG, HCT, RBC, MCH, MCHC, MCV, RDW-CV, PLT, PCT, MPV, PDW) как комплекса рутинных показателей эндогенной среды организма человека.

2. На втором этапе проведен сравнительный статистический анализ смещений уровня глюкозы при разделении общей выборки проб на терции (3 равные части в зависимости от величины каждого исследуемого показателя).

III. Оценка влияния возрастного фактора на количество гемолизированных проб, поступающих в лабораторию

Исследование включало четыре этапа:

1. При проведении оценки проблем выявления гемолизированных проб на преаналитическом этапе биохимических исследований венозной крови проанализировано 3553 пробы крови людей, проходящих плановое лечение в условиях стационара. В работе использовали два основных метода оценки гемолиза: визуальный и инструментальный. С помощью каждого метода проводили исследование всех образцов сыворотки и плазмы крови в течение месяца. Степень гемолиза измеряли инструментальным методом на автоматическом анализаторе Abbott Architect c8000 с использованием специального протокола для HIL-индексов.

Определение индексов интерференции в образцах включало снятие характеристик образца при различных длинах волн после разбавления изотоническим раствором. В результате получали полуколичественные значения индекса и качественную оценку присутствия гемолиза в образцах сыворотки.

Для сравнения полученных результатов использован метод 6σ (шесть сигм). Минимальное требование для процессов в промышленности 3σ , что составляет 6,68% дефектов от общего количества (таблица 2). В системе здравоохранения способность процессов на уровне от $3,6$ до $3,8\sigma$ рассматривается в качестве приемлемой [Choppin J., 1995].

Таблица 2. – Количество дефектов по методу «Шесть сигм» *

Уровень σ	Количество дефектов на миллион	Количество дефектов на тысячу	% дефектов от общего количества.
6	3,4	0,0034	0,00034%
5	233	0,233	0,0233%
4	6210	6,210	0,621%
3	66807	66,807	6,68%
2	308537	308,537	30,85%
1	691462,5	691,462,5	69,15%

* https://en.wikipedia.org/wiki/Six_Sigma

2. Далее для оценки возрастного фактора проведено проспективное исследование, включающее 19650 проб крови человека, поступивших в лабораторию СПб ГБУЗ «ГМПБ №2» в течении 6 месяцев. Вся выборка была поделена на 4 группы согласно возрасту. После чего был произведен расчет доли гемолизированных проб за каждый месяц в каждой возрастной группе.

3. Следующим этапом, в виде ретроспективного анализа данных, проведена оценка количества проб с критическими значениями уровня K^+ и Na^+ как одних из наиболее чувствительных к гемолизу исследуемых веществ. Дополнительная выборка состояла из 33577 образцов, поступивших в лабораторию ГМПБ №2 в течение полугода. Вся выборка была поделена таким же образом на 4 группы согласно возрасту. После чего был произведен расчет доли высоких и низких критических значений [Волчков В. А. и др., 2019] в каждой возрастной группе.

4. Для оценки эффективности внедренных методических рекомендаций по индивидуальному подбору игл для венепункции у лиц пожилого и старческого возраста на наличие гемолиза проанализировано первично (до внедрения методики) 576 образцов в течении 1 рабочей недели, вторично (после внедрения методики) через календарный месяц исследовано 485 проб в течении 1 рабочей недели.

Методика индивидуального подбора игл для флеботомии у лиц пожилого и старческого возраста основана на визуальной оценке состояния вен, далее происходил подбор средств венепункции по следующим критериям: 1. Если при визуальной оценке средняя локтевая вена легко обнаруживается и ее диаметр больше 5 мм, следует использовать иглы от 1,2 мм (G18) до 0,9 мм (G20); 2. Если при визуальной оценке диаметр вены от 3 до 5 мм, следует использовать иглы от 0,7 мм (G22) до 0,9 мм (G20); 3. Если при визуальной оценке диаметр вены от 2 мм и меньше, следует использовать иглы от 0,45 мм (G27) до 0,55 мм (G24); 4. При глубоком залегании локтевых вен и невозможности оценить диаметр вен, целесообразно использовать иглы от G22 до G20 с визуальной камерой.

Все исследованные образцы получены от людей в возрасте от 60 лет и старше, проходящих плановое лечение в стационаре.

Оценка эффективности внедренной методики проводилась по средствам сравнения количества гемолизированных проб при помощи метода 6σ .

Методы статистической обработки результатов исследования.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи пакета программ статистической обработки «IBM SPSS Statistics» и «Microsoft Office Excel». Все показатели проверялись на соответствие нормальному распределению по

критерию Колмогорова-Смирнова. Для определения *статистической* значимости различий между двумя группами использовался критерий Манна-Уитни для независимых выборок. Пороговое значение уровня значимости принимали $p \leq 0,05$. Корреляционная зависимость оценивалась по критерию Спирмена для непараметрических данных. Интерпретация коэффициента корреляции производилась, исходя из уровня силы связи: $0,01 \leq r \leq 0,29$ – слабая связь, $0,30 \leq r \leq 0,69$ – средняя связь.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

I. Влияние возрастного фактора на стабильность биологических веществ в крови человека

1. При изучении стабильности показателей крови на преаналитическом этапе нами получены следующие результаты:

- в пробирках без клеточного компонента (группа 1) в течение 72 часов не происходит *клинически* значимых изменений уровня исследуемых веществ, в том числе при температуре 30°C, на всем протяжении наблюдения. *Статистически* значимые изменения уровней АСТ, общего билирубина, глюкозы, щелочной фосфатазы происходили уже после 4 ч хранения образцов.

- в пробах с клеточным компонентом (группа 2) *статистически* значимые изменения концентраций выявляются уже после 4 ч хранения по следующим веществам: общий билирубин, глюкоза. *Клинически* значимые изменения концентраций произошли по уровню калия и глюкозы. Уровень глюкозы *клинически* значимо изменялся в результате хранения в течение 48 ч при температуре 4°C; (24 ч при RCV 80%), в течение 48 ч при температуре 23°C; в течение 24 ч и 48 ч при температуре 30°C (рисунок 1).

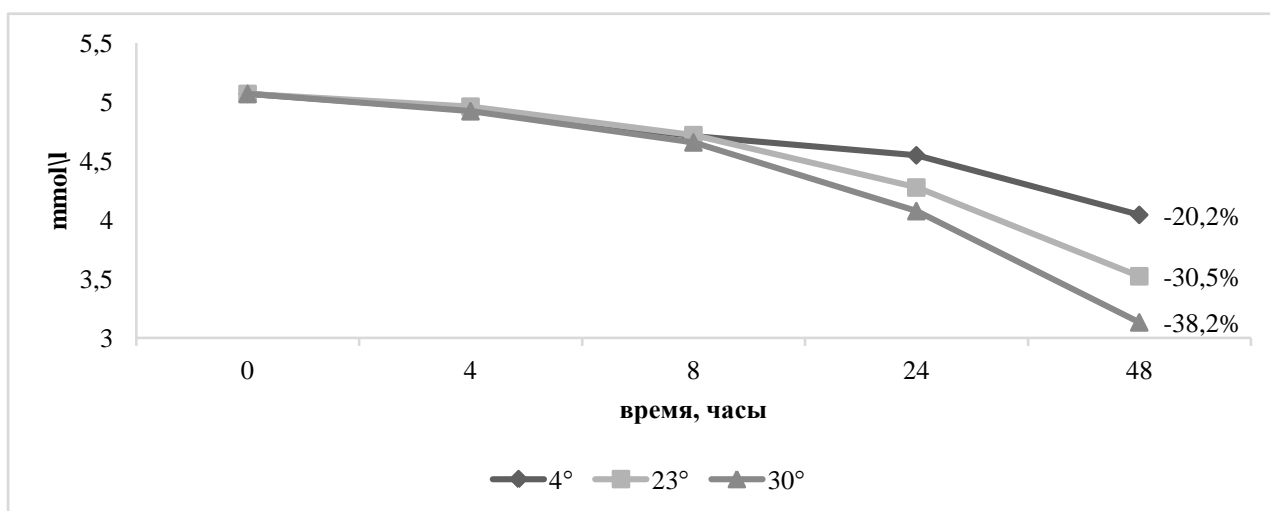


Рисунок 1. – Динамика уровня глюкозы в зависимости от температуры и времени хранения образца, группа 2

Уровень калия *клинически* значимо изменился в результате хранения в течение 24 ч и 48 ч при температуре 4С°; в течение 48 ч при температуре 23С° и 30С° (рисунок 2).

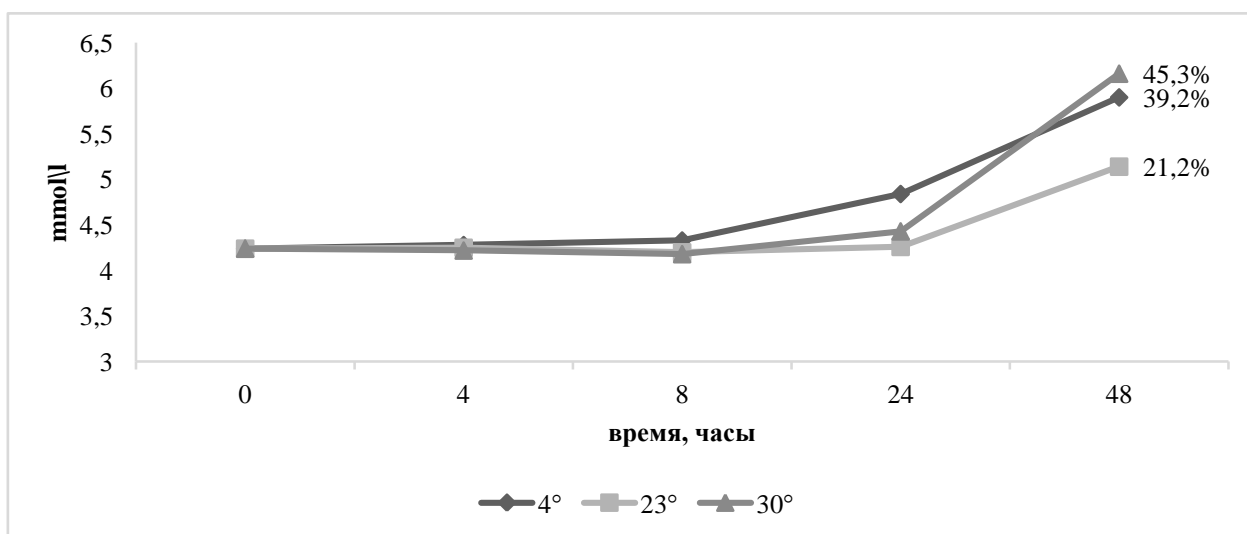


Рисунок 2. – Динамика уровня калия в зависимости от температуры и времени хранения образца, группа 2

В образцах с клеточным компонентом *клинически* значимые изменения выявили по уровню калия и глюкозы. Изменение уровня калия происходит в результате ингибирования натрий-калиевого насоса и повышения проницаемости мембран эритроцитов, что приводит к выходу ионов калия против градиента концентрации, более активно эти процессы протекают при низкой температуре, что показано на рисунке 1. Изменения уровня глюкозы наблюдаются в результате использования ее клеточной массой в качестве источника энергии (рисунок 2).

На примере глюкозы в группе с клеточным компонентом в образцах мы получили различные сроки приемлемого хранения образца в зависимости от степени достоверности *клинически* значимого смещения (RCV 95% и 80%). Необходимо отметить, что в ряде случаев 80% степени достоверности достаточно для регистрации неблагоприятной тенденции, в литературе такие результаты отмечаются терминами «указывающий» и «обращающий внимание на» [Biologic Variation: Principles and Practice - Westgard].

2. По результатам анализа влияния возрастного фактора выявлены *статистически* и *клинически* значимые отличия уровня смещения глюкозы при сравнении возрастных групп. Уровень калия *клинически* значимо увеличивается у людей в 3 группе (75 и более лет) при температуре 4°С и длительности хранения в течение 24 ч, а также у всех групп при температуре 4°С и длительности хранения в течение 48 ч (таблица 3). *Статистически* значимые смещения уровня калия при сравнении возрастных групп не выявлено (таблица 4). Уровень глюкозы *клинически* значимо уменьшается у людей в группе 1 (35 – 59 лет) и 2 (60 – 74 лет) при длительности хранения в течение 24 и 48 ч, однако у образцов в 3 группе (75 и более лет) *клинически* значимых изменений не выявлено (таблица 5). Выявлены *статистически* значимые отличия между группами 1 (35 – 59 лет) и 3 (60 – 74 лет) а также 1 (35 – 59 лет) и 2 (60 – 74 лет) по уровню изменения глюкозы в пробах при температуре 4°, 23°С и длительности хранения в течение 24 и 48 ч (таблица 6).

Таблица 3. – Среднее смещение уровня калия в возрастных группах, %

Группы (возраст, лет)	t=4°C, T=24ч	t=23°C, T=24ч	t=4°C, T=48ч	t=23°C, T=48ч
1 (35 – 59)	+11,9	+5,3	+46,0*	+10,5
2 (60 – 74)	+11,7	+5,0	+46,1*	+11,0
3 (75 и более)	+13,8*	+4,8	+46,6*	+9,7

*клинически значимое смещение (RCV 95%)

Таблица 4. – Значение критерия Манна-Уитни при сравнении возрастных групп по смещению уровня калия

Группы сравнения	t=4 °C, T=24ч	t=23°C, T=24ч	t=4°C, T=48ч	t=23°C, T=48ч
1 и 2	0,968	0,499	0,914	0,570
2 и 3	0,184	0,681	0,961	0,809
1 и 3	0,161	0,668	0,972	0,755

Таблица 5. – Среднее смещение уровня глюкозы в возрастных группах, %

Группы (возраст, лет)	t=4 °C, T=24ч	t=23°C, T=24ч	t=4°C, T=48ч	t=23°C, T=48ч
1 (35 – 59)	-17,09*	-25,28*	-23,45*	-28,14*
2 (60 – 74)	-11,28	-17,96*	-17,48*	-21,6*
3 (75 и более)	-9,4	-12,3	-12,69	-15,9

*клинически значимое смещение (RCV 95%)

Таблица 6. – Значение критерия Манна-Уитни при сравнении возрастных групп по смещению уровня глюкозы

Группы сравнения	t=4 °C, T=24ч	t=23°C, T=24ч	t=4°C, T=48ч	t=23°C, T=48ч
1 и 2	0,003*	0,006*	0,041*	0,048*
2 и 3	0,307	0,454	0,134	0,267
1 и 3	0,001*	0,002*	0,001*	0,036*

Примечание. * $p \leq 0,05$ отклонение нулевой гипотезы и статистически значимое отличие сравниваемых групп.

Влияние возрастного фактора на вещества в крови человека при хранении и транспортировке образцов изучено мало, однако такие данные могут представлять практический интерес для лабораторий в связи с тенденцией к централизации

лабораторных исследований и связанной с ней разработкой логистических решений. Ряд веществ более подвержен влиянию внешних и внутренних факторов при длительном хранении и транспортировке, в том числе калий и глюкоза, что показано в ГОСТ Р 53079.4–2008. и научных публикациях [Мошкин А. В., Долгов В. В., 2004; Гудер В. Г. и др., 2010]. Таким образом, наше исследование позволило расширить границы понимания влияния такого мало изученного фактора влияния, как возраст, на стабильность веществ в сыворотке крови. Смещение уровня глюкозы, как видно из таблиц 5 и 6, имеет значимую зависимость от возрастного фактора. Это можно объяснить снижением с возрастом внутриклеточного уровня окисления глюкозы. А также снижением физической активности, дисфункцией митохондрий, гормональными изменениями, повышенным окислительным стрессом и воспалением [Kalyani R. R., Egan J. M., 2013]. Клинически значимое смещение уровня калия (таблица 3) у лиц старческого возраста можно объяснить снижением метаболизма в клетках, в результате чего ионы K^+ быстрее выходят из клеток по градиенту концентрации.

II. Влияние эндогенных факторов на уровень концентрации глюкозы в различных возрастных группах

Исследуемая выборка разделялась на терцили (3 группы) по количеству образцов в зависимости от диапазона результатов исследуемого показателя (таблица 7).

1. По результатам анализа корреляционной зависимости (таблица 8) выявлено: обратная слабая и средняя корреляционные связи наблюдаются среди показателей: лимфоциты (-0,261 для 24 ч и -0,287 для 48 ч); эозинофилы (-0,253 для 24 ч и -0,237 для 48 ч); тромбоциты (-0,254 для 24 ч и -0,312 для 48 ч); тромбоцитрит (-0,185 для 24 ч и -0,246 для 48 ч). Прямая слабая и средняя корреляционные связи наблюдаются среди показателей: средний объем тромбоцитов (0,285 для 24 ч и 0,333 для 48 ч); относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму (0,315 для 24 ч и 0,361 для 48 ч). Также слабая корреляционная взаимосвязь обнаружена и относительно возраста человека (0,258 для 24 ч и 0,282 для 48 ч). Слабая корреляционная связь берется во внимание для проверки дополнительных статистических разработок. Увеличение корреляционных индексов в зависимости от времени хранения образцов, возможно, связано с нелинейностью корреляционной зависимости.

Традиционно снижение уровня глюкозы в пробах объясняют процессом гликолиза в эритроцитах. Однако результаты данного исследования свидетельствуют о незначительном влиянии эритроцитарных индексов крови на уровень снижения глюкозы в пробах, очевидно это связано с образованием сгустка в пробирке и препятствовании доступа глюкозы к клеточному компоненту крови.

Корреляционная взаимосвязь смещения глюкозы и тромбоцитарных индексов, на первый взгляд, выглядит неоднозначно. Однако, по данным М. Aibibula и соавторов [Aibibula M., Naseem K. M., Sturmeу R. G., 2018], переход тромбоцитов из состояния покоя в активированное состояние требует кардинальных изменений в доступности АТФ. Тромбоциты обладают молекулярным механизмом, необходимым для генерации АТФ как в процессе гликолиза, так и окислительного фосфорилирования. Учитывая вышеизложенное, можно предположить наличие влияния тромбоцитарных параметров на стабильность уровня концентрации глюкозы во время хранения образцов, что подтверждает наше исследование.

2. Для дальнейшего изучения проведен сравнительный статистический анализ сформированных групп (табл. 7), наиболее информативным было сравнение групп 1 и 3, так как это группы с минимальными и максимальными значениями исследуемых параметров. Полученные данные представлены в таблице 9.

По данным таблицы 9, прослеживаются *статистически* значимые отличия (в группах 1 и 3) изменения уровня глюкозы в зависимости от уровня представленных показателей: лимфоциты (0,05 для 24 ч и 0,025 для 48 ч); эозинофилы (0,001 для 24 ч и 0,003 для 48 ч); тромбоциты (0,008 для 24 ч и 0,001 для 48 ч); тромбокрит (0,012 для 24 ч и 0,002 для 48 ч); средний объем тромбоцитов (0,01 для 24 ч и 0,001 для 48 ч); относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму (0,001 для 24 ч и 48 ч); $p \leq 0,05$, что свидетельствует о *статистической* значимости. *Статистически* значимые отличия (в группах 1 и 3) обнаружены также и по возрасту человека (0,014 для 24 ч и 0,012 для 48 ч).

Таблица 7. – Разделение исследуемых показателей по группам

Параметр	Возраст (г)			Lym (10 ⁹ /л)			EOS (10 ⁹ /л)			PLT (10 ⁹ /л)			PCT (%)			MPV (фл)			PDW (%)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Группы	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
количество образцов	38	38	39	38	38	38	38	38	39	38	38	39	38	38	39	38	38	39	38	38	39
Диапазон значений	21 - 58	58 - 72	72 - 90	0,4 - 1,66	1,66 - 2,35	2,36 - 5,62	0- 0,11	0,11- 0,23	0,24- 1,3	71 - 175	175- 418	424- 981	0,06- 0,14	0,15- 0,25	0,25- 0,79	4,5- 6,6	6,6- 7,8	7,9- 12,8	17,1- 19,1	19,2- 20,5	20,5- 24,8

Таблица 8. – Корреляционная зависимость гематологических параметров и изменения уровня глюкозы

Параметр	Возраст г	CO Э	WB С	NEU Т	NEUT %	LY М	LYM %	MO N	MON %	EOS %	EOS %	BA S	BAS %	HB G	HC T	RB C	MC H	MCH C	MC V	RDW -CV	PLT	PCT	MP V	PD W
Смещение 24 ч	0,26	-0,06	-0,14	-0,08	0,07	-0,26	-0,07	-0,13	-0,02	-0,25	-0,13	-0,16	-0,02	0,03	0,11	0,08	0,09	0,15	0,07	-0,04	-0,25	-0,19	0,29	0,32
Смещение 48 ч	0,28	-0,08	-0,20	-0,14	0,03	-0,29	-0,05	-0,16	0,11	-0,24	-0,08	-0,21	0,03	0,05	0,04	0,02	0,09	0,13	0,06	0,04	-0,31	-0,25	0,33	0,36

Таблица 9. – Расчеты статистической значимости сравнения исследуемых групп

Параметр	Возраст			Lym			EOS			PLT			PCT			MPV			PDW		
	1и2	1и3	2и3	1и2	1и3	2и3	1&2	1&3	2&3	1&2	1&3	2&3	1&2	1&3	2&3	1&2	1&3	2&3	1&2	1&3	2&3
Смещение 24 ч	0,061	0,014	0,67	0,807	0,05	0,119	0,004	0,001	0,983	0,014	0,008	0,787	0,009	0,012	0,901	0,366	0,01	0,071	0,016	0,001	0,232
Смещение 48 ч	0,076	0,012	0,375	0,24	0,025	0,225	0,009	0,003	0,923	0,002	0,001	0,702	0,002	0,002	0,866	0,467	0,001	0,009	0,028	0,001	0,068

С возрастом происходит снижение внутриклеточного уровня окисления глюкозы во всех тканях организма. Возможные причины снижения эффективности инсулина при старении включают: снижение физической активности, дисфункцию митохондрий, гормональные изменения (то есть снижение IGF-1 и DHEA), повышенный окислительный стресс и воспаление [Kalyani R. R., Egan J. M., 2013].

Среди эндогенных факторов наиболее значимыми в результате исследования нами выделены: возраст, количество лимфоцитов (LYM), эозинофилов (EOS), тромбоцитов (PLT), величины тромбокрита (PCT), среднего объема тромбоцитов (MPV), относительной ширины распределения тромбоцитов по объёму (PDW).

Результаты данного исследования позволили создать и зарегистрировать программу для ЭВМ, осуществляющую прогнозирование смещения аналитов при воздействии эндогенных и экзогенных факторов. Программа основана на регрессионном анализе полученных в ходе исследования данных. Для прогнозирования смещения уровня глюкозы в пробах используются следующие параметры: время хранения пробы, средний объем тромбоцитов (MPV), возраст, гематокрит (HCT), тромбоцит (PCT). Данная программа может быть внедрена при планировании логистики и централизации лабораторий.

По результатам исследования установлено: из спектра рутинных биохимических исследований наиболее чувствительными к изменениям температуры и времени хранения (экзогенных факторов) с точки зрения клинической значимости являются уровень калия и глюкозы. Образцы крови людей пожилого и старческого возраста менее подвержены влиянию экзогенных факторов при анализе уровня глюкозы в крови. В то же время, образцы людей старческого возраста более подвержены влиянию эндогенных факторов при анализе уровня калия в образце крови.

III. Влияние возрастного фактора на количество гемолизированных проб, поступающих в лабораторию

1. При визуальной и инструментальной оценке было исследовано 3553 проб. При визуальной оценке выявлена 61 проба (1,73%) с гемолизом различной степени интенсивности. При инструментальной оценке выявлена 91 проба с гемолизом, что составляет 2,56%. С целью оценки значимости полученных данных использовали метод 6σ [Six Sigma Tutorial - Tutorialspoint,]. Применяли подсчет количества ошибок на миллион, после чего переводили в значение σ : для визуальной оценки – $1,73\% \times 10^6 / 100\% = 17300$, полученное значение равно 3,7 σ ; для инструментальной оценки – $2,56\% \times 10^6 / 100\% = 25600$, полученное значение равно 3,5 σ . Таким образом аппаратный метод определения гемолиза в пробах предпочтительнее ввиду обнаружения незаметных визуально гемолизированных проб.

Если интерференция превышает допустимые пределы (установленные производителем реактивов и/или прибора), вероятнее всего, произойдет *клинически* значимое смещение в измерении. Причиной гемолиза *in vitro* являются нарушения алгоритмов венепункции, транспортировки и обработки образцов.

Аппаратный метод существенно улучшает обнаружение умеренно гемолизированных образцов, в которых концентрация сывороточного свободного гемоглобина колеблется от 0,3 до 0,6 г/л (показатель визуального обнаружения).

2. В результате обработки данных выявлено общее относительное количество гемолизированных проб по возрастам за исследуемый период времени (таблица 10).

Средняя величина получения гемолизированной пробы у людей в возрасте от 21 до 34 лет составила 0,85%, в возрасте от 35 до 59 лет – 1,40%, в возрасте от 60 до 74 лет – 0,92%, в возрасте от 75 лет и старше – 1,75%. *Статистически* значимое отличие количества гемолизированных проб было обнаружено между группой людей в возрасте от 60 до 74 и группой людей в возрасте от 75 и старше (асимптотическая значимость. 0,016).

Таблица 10. – Количество гемолизированных проб в исследуемых группах

Группа (возраст, лет)	1 (21 -34 лет)	2 (35 -59 лет)	3 (60 – 74 лет)	4 (75+ лет)
% гем. за июль	0,41	0,67	0,59	1,18
% гем. за август	0,91	1,15	0,68	2,47
% гем. за сентябрь	1,53	1,94	0,68	1,83
% гем. за октябрь	0,35	1,13	0,69	1,49
% гем. за ноябрь	0,00	1,68	1,56	1,78
% гем. за декабрь	1,92	1,80	1,30	1,73
Средний %	0,85	1,40	0,92	1,75
Асимптотическая значимость	0,150		0,149	0,016*

**Асимптотическая значимость, не превышающая 0,05 говорит об отклонении нулевой гипотезы и статистически значимом отличии сравниваемых групп.*

Коэффициент корреляции величины возраста человека и количества гемолизированных проб составил 0,299, что можно интерпретировать как слабую зависимость.

По результатам нашего исследования можно предположить о частичном влиянии возраста на возникновение гемолизированных проб. Согласно полученным данным, количество гемолизированных проб существенно выше в группе людей от 75 лет и старше. По нашему мнению, ключевую роль в этом играет совокупность факторов от более сложной процедуры венепункции у лиц пожилого возраста [ГОСТ Р 52623.4-2015 Технологии выполнения простых медицинских услуг инвазивных вмешательств - docs.cntd.ru,] до наличия коморбидности у этой группы людей [Arahata M., Asakura H., 2018]. Таким образом, более внимательное отношение к процедуре венепункции у лиц старших возрастных групп может снизить количество гемолизированных проб, поступающих в лабораторию. Снижение количества гемолизированных проб при больших объёмах работы лаборатории позволят получить экономическую выгоду за счет уменьшения числа расходных материалов и уменьшения количества тестов, назначаемых повторно.

3. Далее были получены результаты оценки критических значений уровня K^+ и Na^+ , показателей, наиболее ярко отражающих процесс гемолиза эритроцитов (ввиду выхода ионов K^+ из клеток и эффектов разведения). В результате оценки критических значений уровня K^+ рассчитаны средние величины количества встречаемости критических значений в исследуемых группах (табл. 11). Данные таблицы 11 показывают как увеличение количества критических значений уровня K^+ с возрастом, так и статистически значимые отличия уровня калия в разных возрастных группах.

Таблица 11. – Количество проб с критическими значениями уровня K^+ в исследуемых группах

Группа (возраст, лет)	1 (21 -34)	2 (35 -59)	3 (60 – 74)	4 (75 и более)
Количество проб	537	3921	7942	5950
$K^+ > 6.2$	1	2	36	48
% $K^+ > 6.2$	0,19	0,05	0,45	0,81
$K^+ < 2.6$	0	5	18	20
% $K^+ < 2.6$	0,00	0,13	0,23	0,34
Асимптотическая значимость	0,001*		0,001*	0,012*

**Асимптотическая значимость, не превышающая 0,05, свидетельствует об отклонении нулевой гипотезы и статистически значимом отличии сравниваемых групп.*

В результате оценки критических значений уровня Na^+ рассчитаны средние величины количества встречаемости критических значений этого показателя в исследуемых группах (таблица 12). Данные таблицы 12 показывают увеличение количества критических значений уровня Na^+ с возрастом и статистически значимые отличия уровня калия у людей пожилого и старческого возраста.

Таблица 12. – Количество проб с критическими значениями Na^+ в исследуемых группах

Группа (возраст, лет)	1 (21 -34)	2 (35 -59)	3 (60 – 74)	4 (75 и более)
Количество проб	506	3319	6617	4785
$Na^+ > 155$	0	2	7	14
% $Na^+ > 155$	0,00	0,06	0,11	0,29
$Na^+ < 120$	0	1	5	7
% $Na^+ < 120$	0,00	0,03	0,08	0,15
Асимптотическая значимость	0,702		0,001*	0,001*

**Асимптотическая значимость, не превышающая 0,05, свидетельствует об отклонении нулевой гипотезы и статистически значимом отличии сравниваемых групп.*

Результаты исследования критических значений электролитов показывают увеличение встречаемости таких результатов с возрастом человека. Также, значения уровней рассматриваемых электролитов *статистически* значимо отличаются в рассматриваемых группах. Такие результаты возможны по причине прогрессирующих с возрастом инволютивных изменений чашечно-лоханочной системы почек. Согласно

данным литературы, с возрастом происходит потеря массы и ухудшение функции почек [Тоуама Т. et al., 2020]. По нашему мнению, гемолиз также вносит вклад в результаты измерения электролитов в полученной выборке, но его влияние в данном случае не является определяющим. В то же время, стоит понимать важность каждой пробы и правильность интерпретации результатов, так как выводы на основе полученных данных напрямую отражаются на принятии клинических решений.

4. Результаты оценки эффективности внедренных методических рекомендаций по подбору игл для венепункции представлены в таблице 13.

Таблица 13. – Сравнение первичной и вторичной оценки количества гемолизированных проб

	Количество исследованных проб	Доля гемолизированных проб (%)	Значение σ
Первичная оценка	576	2,56	3,4
Вторичная оценка	485	1,53	3,6

При первичной оценке доля гемолизированных проб составила 2,6%, что составляет 3,4 σ . При вторичной оценке после индивидуального подбора игл для венепункции доля гемолизированных проб составила 1,57%, что соответствует 3,6 σ . Таким образом, после внедрения методики индивидуального подбора игл получен существенный прирост в качестве процесса флеботомии.

При подсчете изменений экономических затрат составлен перечень расходных материалов, необходимых для выполнения одной процедуры венепункции, и подсчитана стоимость одной процедуры по данным СПб Городской многопрофильной больницы № 2 (таблица 14). Учитывая вышеизложенное, составлена таблица предполагаемого снижения экономических затрат за счет уменьшения повторных заборов крови по причине гемолиза (таблица 15).

Таблица 14. – Стоимость расходных материалов

Год	2019	2020	2021
Стоимость (руб.)	55,23	57,1	60,83

Таблица 15. – Финансовые затраты на процедуру флеботомии

Год	Количество процедур венепункции	Стоимость расходных материалов (руб.)	Предполагаемая финансовая выгода (руб.)
2019	119721	6612227	68105
2020	122993	7022900	72335
2021	129441	7873936	81101

Исходя из полученной предполагаемой финансовой целесообразности произведен расчет сэкономленных процедур венепункции (таблица 16).

Таблица 16. – Результаты расчёта финансовой целесообразности

Год	Предполагаемая финансовая выгода (руб.)	Исключённые процедуры венепункции
2019	68105	1233
2020	72335	1266
2021	81101	1333

Выполненное нами исследование подтверждает позитивный эффект от конкретизации рекомендаций по индивидуальному подбору игл для флеботомии у лиц пожилого и старческого возраста. Анализ процесса по системе 6 σ показал значимый прирост в качестве, что позволило повысить финансовую эффективность преаналитического этапа.

Количество гемолизированных образцов повышается у людей старших возрастных групп, однако, при индивидуальном подборе игл для венепункции можно на 40% сократить количество гемолизированных проб у лиц старших возрастных групп, что позволяет снизить затраты на расходные материалы за счёт исключения повторных тестов.

ВЫВОДЫ

1. Уровень калия в образцах с клеточным компонентом увеличивается при температуре хранения 4°C через 24 часа, при температурах 23°C и 30°C - через 48 часов. Уровень глюкозы в образцах с клеточным компонентом начинает уменьшаться при температуре хранения 4°C через 48 часов, при температурах 23°C и 30°C - через 24 часа.

2. *Клинически* значимых изменений уровня АЛТ, АСТ, общего билирубина, глюкозы, калия, креатинина, КФК, ЛДГ, мочевины, натрия, общего белка, триглицеридов, щелочной фосфатазы, хлора, холестерина в образцах без клеточного компонента выявлено не было.

3. Смещение уровня глюкозы *статистически* значимо отличается между возрастными группами от 35 до 59 (средний возраст II половина) и от 60 до 74 лет (пожилой возраст). Также, снижение уровня глюкозы при температуре хранения образцов 4°C в течение 24 ч у лиц старческого возраста ниже на 45% по сравнению с людьми среднего возраста.

4. Изучение стабильности концентрации глюкозы в сыворотке крови при температуре хранения образцов +4°C в течение 24 ч и 48 ч позволило выявить *статистически* значимое влияние температуры и сроков хранения на образцы. Снижение уровня концентрации глюкозы в пробах связано с увеличением таких показателей, как возраст, количество лимфоцитов (LYM), эозинофилов (EOS), тромбоцитов (PLT), тромбокрита (PCT), и уменьшением таких показателей, как величины среднего объема

тромбоцитов (MPV), относительной ширины распределения тромбоцитов по объёму (PDW).

5. Для тестов, чувствительных к гемолизу, важен аппаратный контроль на преаналитическом этапе, что позволит снизить на 33% количество ошибок, связанных с гемолизом, и тем самым повысить качество оказываемой медицинской помощи.

6. У людей в возрасте от 75 лет и старше *статистически* значимо чаще возникает гемолиз в пробах венозной крови. У лиц старческого возраста количество гемолизированных биологических проб больше в среднем на 51,5% по сравнению с аналогичным показателем у лиц среднего возраста. Отличие в количестве гемолизированных образцов у лиц пожилого возраста по сравнению с средним возрастом статистически не значимо.

7. Индивидуальный подбор игл у лиц пожилого и старческого возраста калибром от G18 (1,2 мм) до G27 (0,45 мм) при визуальном определении диаметра вен от 5 мм и более до 2 мм и менее существенно увеличивает качество процесса и экономическую эффективность флеботомии.

8. Экономические расчеты показали, что экономия при обследовании лиц пожилого и старческого возраста составила: 68 105 за 2019 год, 72 335 рублей за 2020 год и 81 101 за 2021 год, за счет 1233, 1266 и 1333 процедур флеботомии, соответственно, у людей пожилого и старческого возраста, которые не выполнялись повторно. Экономическая выгода достигается за счет сокращения использования расходных материалов при повторных процедурах флеботомии в связи с некачественными образцами крови.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Экономически обосновано применение индивидуального подбора игл при венепункции у лиц пожилого и старческого возраста.

2. Рекомендуется внедрить автоматизированное измерение индекса гемолиза во всех образцах сыворотки крови, поступивших в лабораторию, что позволит снизить до минимума количество ошибок и, как результат, повысит качество оказываемой медицинской помощи.

3. Для повышения качества преаналитического этапа при проведении исследований крови биохимического профиля необходимо учитывать как экзогенные, так и эндогенные факторы (индивидуальный подбор игл при венепункции у лиц старших возрастных групп, время и температура хранения образцов, клеточный состав крови при длительном хранении).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ
Статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией
при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации

1. Актуальные проблемы выявления гемолизированных проб на преаналитическом этапе лабораторных исследований при выполнении биохимического анализа крови человека / **Д.П. Пискунов**, Л.А. Данилова, А.И. Петерсон, А.С. Пушкин, С.А. Рукавишникова, Т.А. Ахмедов //Лабораторная служба. – 2018. – Т. 7. – №. 4. – С. 11-18.
2. Влияние преаналитического этапа на стабильность аналитов биохимического профиля / **Д.П. Пискунов**, А.С. Пушкин, С.А. Рукавишникова, Т.А. Ахмедов // Лабораторная служба. – 2017. – Т. 6. – №. 4. – С. 24-30.
3. Влияние эндогенных факторов на уровень концентрации глюкозы в пробах крови пациентов различных возрастных групп / **Д.П. Пискунов**, Л.А. Данилова, Л.В. Борисова, А.С. Пушкин, Т.А. Ахмедов, В.Л. Эмануэль. //Медицинский алфавит. – 2020. – №. 5. – С. 25-27.
4. Влияние экзогенных и эндогенных факторов на качество преаналитического этапа лабораторных исследований (обзор литературы) / **Д.П. Пискунов**, Л.А. Данилова, А.С. Пушкин, С.А. Рукавишникова //Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65. – №. 12. – С. 778-784.
5. Исследование влияния возраста на результаты уровня электролитов в пробах венозной крови при наличии гемолиза / **Д.П. Пискунов**, А.С. Пушкин, С. А. Рукавишникова //Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. – 2021. – №. 1. – С. 245-253.
6. Оценка влияния возраста на качество лабораторных исследований в процессе хранения проб венозной крови / **Д.П. Пискунов**, А.С. Пушкин, С.А. Рукавишникова // Врач. – 2021. – №. 6. – С. 85 – 88

Статьи в научных журналах, тезисы докладов в материалах конференций и симпозиумов

7. Методы определения гемолиза на преаналитическом этапе биохимических лабораторных исследований / **Д.П. Пискунов**, Л.А. Данилова, А.И. Петерсон, А.С. Пушкин, С.А. Рукавишникова, Т.А. Ахмедов // Студенческая наука - 2018 Рецензируемые научно-практические материалы Всероссийского научного форума студентов и молодых ученых с международным участием – 2018. С. 101.
8. Оценка эффективности метода индивидуального подбора игл для флеботомии у лиц пожилого и старческого возраста / **Д. П. Пискунов**, А. И. Петерсон, А. С. Пушкин, С. А. Рукавишникова // Курск-2022 Материалы Международной научно – практической конференции «Актуальные проблемы медицины и геронтологии – 2022. С. 57-62.

Патенты и авторские свидетельства

9. Программа для учета влияния возрастного эндогенного фактора на стабильность биохимического аналита – глюкозы (Глю-постар) / В. А. Волчков, С. А. Рукавишникова, Т. А. Ахмедов, А. С. Пушкин, У. Р. Сагинбаев, Д. П. Пискунов // Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. – 2021. – СПбГУ. – №2021669975.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- BAS** - количество базофилов
- BAS%** - процентное содержание базофилов
- CVA** - Analytical coefficient of variation
- CVI** - Intraindividual coefficient of variation
- DHEA** – dehydroepiandrosterone
- HbG** - содержание гемоглобина
- HCT** – гематокрит
- HIL** - Hemolysis, icterus, lipemia
- IGF 1** - insulin-like growth factor 1
- LYM** - количество лимфоцитов
- LYM%** - процентное содержание лимфоцитов
- MCH** - среднее содержание гемоглобина в эритроците
- MCHC** - средняя концентрация гемоглобина в эритроците
- MCV** - средний объем эритроцита
- MON** - количество моноцитов
- MON%** - процентное содержание моноцитов
- MPV** - средний объем тромбоцитов
- NEUT** - количество нейтрофилов
- NEUT%** - процентное содержание нейтрофилов
- PCT** – **тромбокрит**
- PDW** - распределение тромбоцитов по объему
- PLT** - количество тромбоцитов
- RBC** - количество эритроцитов
- RCV** - reference change value
- RDW-CV** - коэффициент вариации распределения эритроцитов по объему
- WBC** - количество лейкоцитов
- АЛТ (ALT)** – аланинаминотрансфераза
- АСТ (AST)** – аспартатаминотрансфераза
- АТФ** – аденозинтрифосфат
- EOS** - количество эозинофилов
- EOS%** - процентное содержание эозинофилов
- КФК (СК)** – креатинфосфокиназа
- ЛДГ (LDH)** – лактатдегидрогеназа
- СОЭ** – скорость оседания эритроцитов

УКАЗАТЕЛЬ ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Ono T. Serum-constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. / T. Ono, K. Kitaguchi, M. Takehara, M. Shiiba, K. Hayami // Clin. Chem. 1981a. Т. 27. № 1. С. 35–38; Anderson L. A. Aging in the United States: Opportunities and Challenges for Public Health / L. A. Anderson, R. A. Goodman, D. Holtzman, S. F. Posner and M. E. Northridge // Am. J. Public Health. 2012. Т. 102. № 3. С. 393–395; Киселевич М. М. и др. Геронтологическая помощь: сопоставление позиций населения и медицинских работников / М. М. Киселевич, К. И. Прощаев, Л. Ю. Варавина, О. А. Болховитина, А. Н. Ильницкий, Д. С. Медведев // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. - 2009. - №. 4. Maddox G. L. The encyclopedia of aging: a comprehensive resource in gerontology and geriatrics. // Springer 2013; Lippi G. Laboratory medicine does matter in science (and medicine) ... yet many seem to ignore it / G. Lippi, M. Plebani // Clin. Chem. Lab. Med. CCLM. 2015. Т. 53. № 11. С. 1655–1656; Lippi G. The future of laboratory medicine in the era of precision medicine/ G. Lippi, A. Bassi, C. Bovo // 2016. 2016. Т. 1. № 3; Lippi G. Re-engineering laboratory diagnostics for preventing preanalytical errors. / G. Lippi, R. Bowen, D. M. Adcock // Clin. Biochem. 2016. Т. 49. № 18. С. 1313–1314; Guder W. G. History of the preanalytical phase: a personal view // Biochem. Medica. 2014. Т. 24. № 1. С. 25–30; Cornes M. et al. The CRESS checklist for reporting stability studies: on behalf of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE) / M. Cornes, A. M. Simundic, J. Cadamuro, S. J. Costelloe, G. Baird, G. B. Kristensen, R. G. Rioja, // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). – 2021. – Т. 59. – №. 1. – С. 59-69. Cornes M. P. et al. The role of European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Working Group for Preanalytical Phase in standardization and harmonization of the preanalytical phase in Europe / M. P. Cornes, S. Church, E. van Dongen-Lases, K. Grankvist, J. T. Guimarães, M. Ibarz, // Annals of clinical biochemistry. – 2016. – Т. 53. – №. 5. – С. 539-547. Russia - Age distribution 2019 [Электронный ресурс]. URL: <https://www.statista.com/statistics/271344/age-distribution-in-russia/> (дата обращения: 15.03.2021); Steindel S. J. Physician satisfaction and emergency department laboratory test turnaround time: observations based on College of American Pathologists Q-Probes studies / S. J. Steindel, P. J. Howanitz // Arch. Pathol. Lab. Med. 2001. Т. 125. № 7. С. 863–871; Волчков В. А. Персонафикация управления критическими значениями лабораторных показателей неотложных состояний пациентов многопрофильного стационара / В. А. Волчков, А. С. Пушкин, С. А. Рукавишникова, Е. В. Волчкова, А. А. Бояркин // Анестезиология И Реаниматология. 2019. № 5. С. 69–74 Biologic Variation: Principles and Practice - Westgard [Электронный ресурс]. URL: <https://www.westgard.com/guest19.htm> (дата обращения: 24.03.2021); Гудер В. Г. Пробы: от пациента до лаборатории: влияние факторов преаналитического этапа на качество результатов лабораторных исследований / В. Г. Гудер, С. Нарайанан, Г. Виссер and Б. Цавта. // Москва: Лабора, 2010. Вып. 4. 118 с; Kalyani R. R., Egan J. M. Diabetes and Altered Glucose Metabolism with Aging // Endocrinol. Metab. Clin. North Am. 2013b. Т. 42. № 2. С. 333–347; Chia C. W. Age-related changes in glucose metabolism, hyperglycemia, and cardiovascular risk / C. W. Chia, J. M. Egan, L. Ferrucci // Circ. Res. 2018. Т. 123. № 7. С. 886–904; Six Sigma Tutorial - Tutorialspoint [Электронный ресурс]. URL: https://www.tutorialspoint.com/six_sigma/index.htm (дата обращения: 11.04.2021); Lippi G. Influence of the needle bore size used for collecting venous blood samples on routine clinical

chemistry testing / G. Lippi, G. L. Salvagno, M. Montagnana, G. Brocco, G. C. Guidi // Clin. Chem. Lab. Med. CCLM. 2006a. Т. 44. № 8. С. 1009–1014; Lippi G. Practical recommendations for managing hemolyzed samples in clinical chemistry testing / G. Lippi, J. Cadamuro, A. von Meyer, A.-M. Simundic // Clin. Chem. Lab. Med. CCLM. 2018. Т. 56. № 5. С. 718–727; ГОСТ Р 52623.4-2015 Технологии выполнения простых медицинских услуг инвазивных вмешательств - docs.cntd.ru [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200119182> (дата обращения: 11.04.2021); Arahata M. Antithrombotic therapies for elderly patients: handling problems originating from their comorbidities / M. Arahata, H. Asakura // Clin. Interv. Aging. 2018. Т. 13. С. 1675; Toyama T. Age differences in the relationships between risk factors and loss of kidney function: a general population cohort study / T. Toyama, K. Kitagawa, M. Oshima, S. Kitajima, A. Hara, Y. Iwata, N. Sakai, M. Shimizu, A. Hashiba, K. Furuichi // BMC Nephrol. 2020. Т. 21. № 1. С. 1–9; Maciver N. J. Glucose metabolism in lymphocytes is a regulated process with significant effects on immune cell function and survival / N. J. Maciver, S. R. Jacobs, H. L. Wieman, J. A. Wofford, J. L. Coloff and J. C. Rathmell // J. Leukoc. Biol. 2008. Т. 84. № 4. С. 949–957; Porter L. Metabolic Profiling of Human Eosinophils / L. Porter, N. Toepfner, K. R. Bashant, J. Guck, M. Ashcroft, N. Farahi, E. R. Chilvers // Front. Immunol. 2018. Т. 9. С. 1404. Aibibula M. Glucose metabolism and metabolic flexibility in blood platelets / M. Aibibula, K. M. Naseem, R. G. Sturmeay // J. Thromb. Haemost. 2018. Т. 16. № 11. С. 2300–2314; Kalyani R. R., Egan J. M. Diabetes and Altered Glucose Metabolism with Aging // Endocrinol. Metab. Clin. North Am. 2013b. Т. 42. № 2. С. 333–347.

ПИСКУНОВ Дмитрий Павлович ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТНОГО ФАКТОРАНА
КАЧЕСТВО ПРОВЕДЕНИЯ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА БИОХИМИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ // Автореф. дис. канд. биол. наук: 3.1.31 – геронтология и
гериатрия, СПб. – 2022. – 25 с.

Подписано в печать «15» сентября 2022 г. Формат 60*84 1/16.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л. 1,0.

Тираж 100 экз. Заказ _____.

Отпечатано с готового оригинал-макета
в типографии Издательства СПбГЭТУ «ЛЭТИ»
Издательство СПбГЭТУ «ЛЭТИ»
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 5.