AL-Manara University
Faculty of pharmacy

INTRODUCING CLINICAL BIOCHEMISTRY & THE USE OF THE LABORATORY

Lecture 1

Dr.Rama IBRAHIM
PhD Paris-11 university
2023-2024

CHAPTERS

1. Introducing clinical biochemistry and the use of the laboratory.
2. The interpretation of results and point of care testing.
3. Liver function tests.
4. Cardiovascular disorders.
5. Glucose metabolism disorder.
6. Lipid metabolism disorders.
7. Investigation of renal function.
8. Water and sodium balance.
9. Postassium and Acid-base balance.
10. Calcium, phosphate and magnesium balance.
11. Disorders of the hypothalamus and pituitary.
12. Abnormalities of thyroid function and investigation of gonadal function.

INTRODUCTION TO BIOCHEMISTRY

- **Clinical biochemistry (chemical pathology or clinical laboratory chemistry):** is a branch of laboratory medicine in which chemical and biochemical methods are applied to the study of disease.

- **علم الكيمياء الحيوية السريرية (الكيمياء المرضية أو كيمياء المخبر السريري):** هو فرع من الطب المخبري, يهدف إلى استخدام تقنيات كيميائية أو كيميائية حيوية بهدف دراسة مرض معين.
- **علم الكيمياء الحيوية السريرية :** هو العلم الذي يدرس فعالية أعضاء الجسم في القيام بوظائفها.

INTRODUCTION TO BIOCHEMISTRY

- يعتبر الدور الرئيسي للكيمياء الحيوية السريرية **تأمين معلومات عن المعالم الكيميائية الحيوية لدى المريض, بمايسمح بتدبير الحالة المرضية له.**
- تتطور العديد من الأمراض نتيجة خلل في العمليات الكيميائية الحيوية في الجسم, وبالتالي فإن علم الكيمياء الحيوية السريرية يساعد أيضاً على:

وصف الآلية الإمراضية لمرض معين, وتفسيرها على المستوى الجزيئي.

Descriptions of pathological processes and explanations for disease at a molecular level.

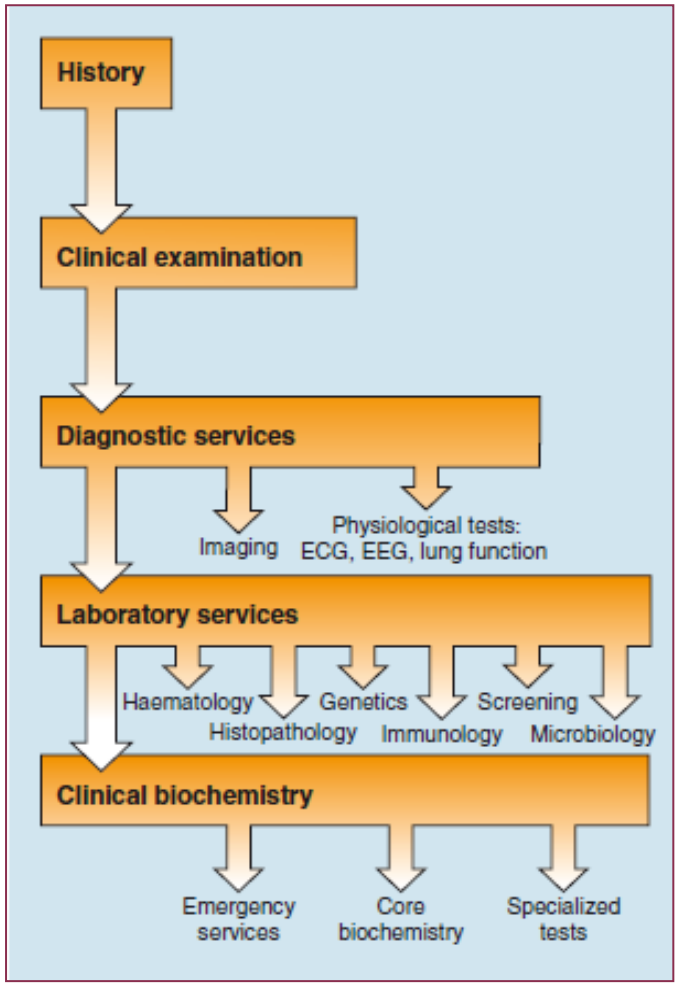
THE USE OF BIOCHEMICAL TESTS

- **Biochemical tests are used in <u>diagnosis</u>, <u>prognosis</u>, <u>screening and monitoring after treatment</u>.**
- **<u>Biochemistry laboratory is also involved in research:</u>** into the biochemical basis of disease and in clinical trials of new drugs.

- **تستخدم التحاليل الكيميائية الحيوية بهدف:**

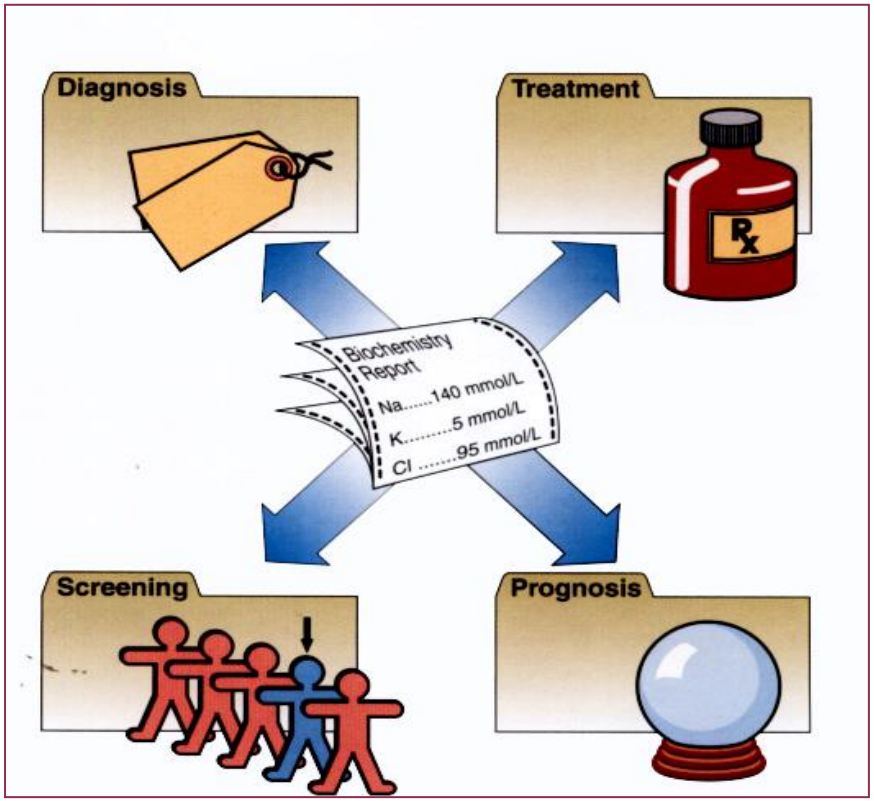
1) التشخيص
2) تقييم الإنذار
3) مسح المرضى
4) مراقبة المرضى بعد العلاج
5) في البحث العلمي من أجل فهم الأساس الكيميائي الحيوي للمرض, وفي التجارب السريرية على الأدوية الجديدة.

The place of clinical biochemistry in medicine



Diagnosis

How biochemical tests are used



أنواع التحاليل الكيميائية الحيوية المخبرية
BIOCHEMICAL LABORATORY TESTS

1) **الاختبارات الاسعافية Urgent tests:** تؤثر هذه النتائج على العلاج الفوري للمريض, ويتم إجراؤها عادة في المستشفيات.

2) **الاختبارات الأساسية Core tests:** وهي الاختبارات ذات الأهمية التشخيصية في العديد من الأمراض, يتم إجراؤها في جميع المخابر التحليلية والمستشفيات.

3) **الاختبارات المتخصصة Specialized tests:** وهي اختبارات ذات أهمية خاصة في أمراض معينة, يتم إجراؤها في بعض المخابر التحليلية فقط.

Table 1.1 **The clinical biochemistry repertoire**

Core biochemical tests

- Sodium, potassium and bicarbonate
- Urea and creatinine
- Calcium and phosphate
- Total protein and albumin
- Bilirubin and alkaline phosphatase
- Alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST)
- Free thyroxine (FT_4) and Thyroid Stimulating Hormone (TSH)
- γ-glutamyl transpeptidase (γGT)
- Creatine kinase (CK)
- H^+, PCO_2 and PO_2 (blood gases)
- Glucose
- Amylase

Specialized tests

- Hormones
- Specific proteins
- Trace elements
- Vitamins
- Drugs
- Lipids and lipoproteins
- Intermediary metabolites
- DNA analyses

Over 400 different tests

BIOCHEMICAL LABORATORY SPECIMENS

- **Most biochemical tests are carried out on blood using plasma or serum.**
- But urine, cerebrospinal fluid (CSF), faeces, pleural fluid, etc. are sometimes required.

Specimens used for biochemical analyses

- Venous blood, serum or plasma
- Arterial blood
- Capillary blood
- Blood spot on a filter paper (Guthrie Card)
- Urine
- Faeces
- Cerebrospinal fluid (CSF)
- Sputum and saliva
- Tissue and cells
- Aspirates, e.g.
  - pleural fluid
  - ascites
  - joint (synovial) fluid
  - intestinal (duodenal)
  - pancreatic pseudocysts
- Calculi (stones)

BIOCHEMICAL LABORATORY SPECIMENS

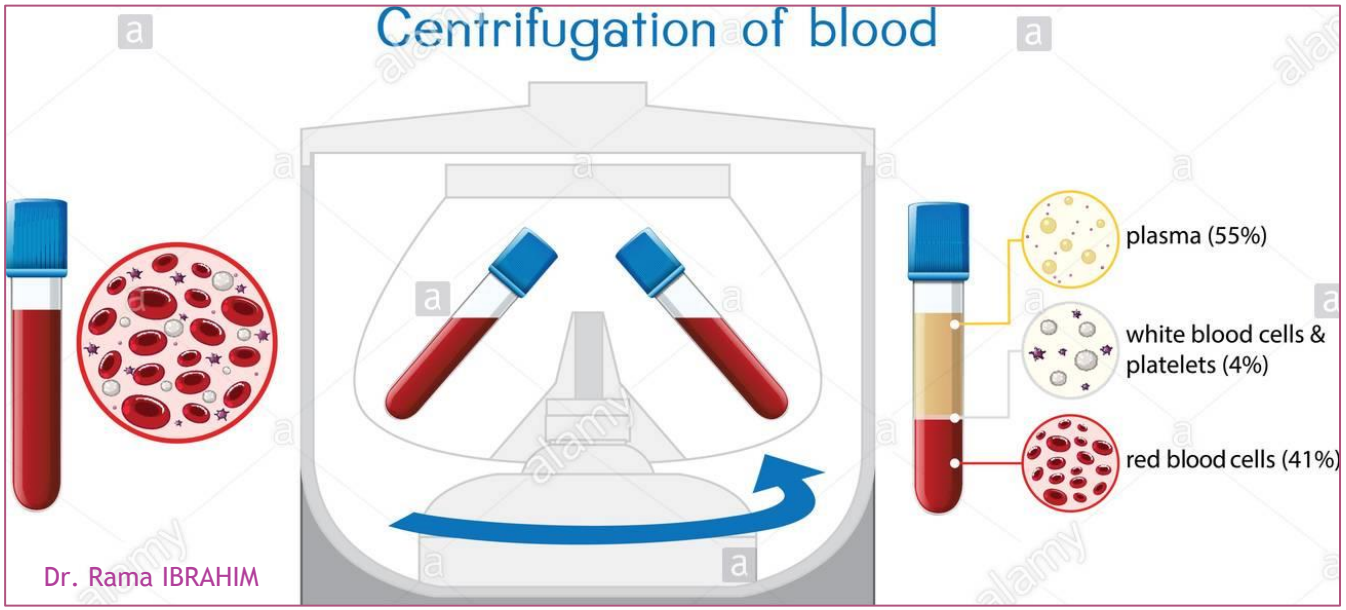
1) Blood specimens:

- **Serum:** is the corresponding fluid phase when blood is allowed to clot and tube is centrifugated.
- **Plasma:** is obtained by collecting blood into an anticoagulant and separating the fluid (plasma phase) from the blood cells by centrifugation.
- **Whole blood sample:** is prepared by collecting blood into an anticoagulant, without centrifugation **(Usually not used for biochemical tests).**

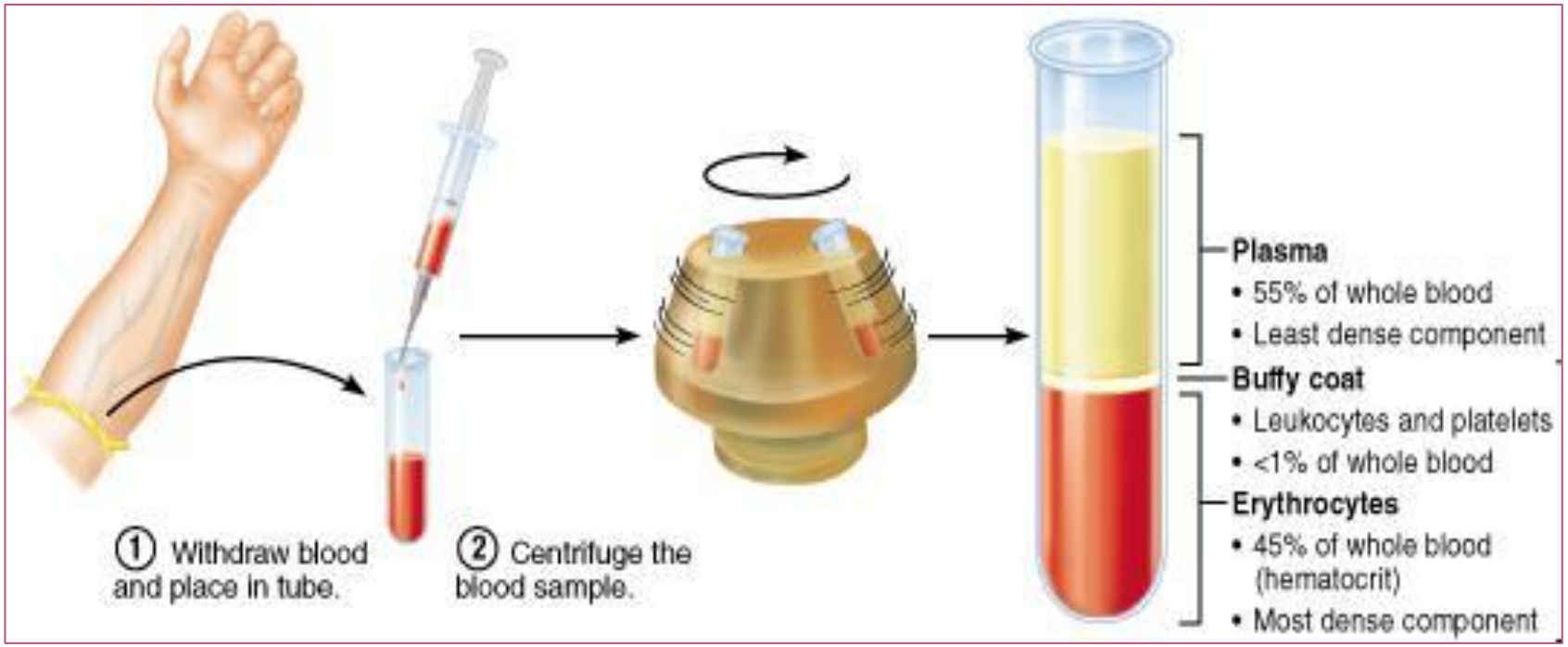
- For many (but not all) biochemical tests on blood, it makes little difference whether plasma or serum is used.
- Plasma is used when the requested tests include one of the clotting factors (e.g, fibrinogen), or when the analyte in question is unstable and speed is necessary.

Centrifugation

- Centrifugation of the sample accelerates the process of separating the plasma and cells.
- Specimens should be centrifuged for approximately **10 minutes at an RCF (Relative Centrifugal Force) of 1000g to 2000g.**
- Violent centrifugation could cause **hemolysis:** mechanical destruction of red cells that can result in hemoglobin release.



Plasma prepartion



BIOCHEMICAL LABORATORY SPECIMENS

2) Urine specimen:

- Urine is the next most common fluid for determination.
- **Most quantitative analyses require a timed sample (usually 24 hours), while simple urinalysis requires a ramdon urine sample.**
- Full 24-hour collection need large containers, while random urine samples need small 'universal' containers.
- Urine specimen containers may include **a preservative to inhibit bacterial growth, or acid to stabilize certain metabolites.**

3) Other specimen types:

- For some tests, specific body fluids or tissue may be required **cerebrospinal fluid (CSF), *paracentesis* fluids** (pleural, pericardial, and peritoneal), and **amniotic fluids**.
- There will be specific protocols for the handling and transport of these samples to the laboratory.

BIOCHEMICAL LABORATORY SPECIMENS

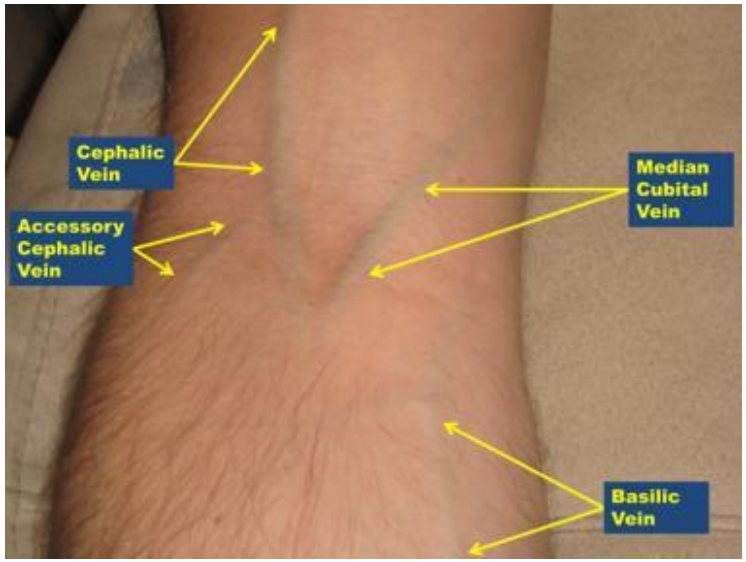
Dangerous specimens:

- All specimens from patients with **dangerous infections** should be labelled with a yellow ‘dangerous specimen’ sticker.
- A similar label should be attached to the request form.
- Of most concern to the laboratory staff are **hepatitis B and HIV**.

TYPES OF BLOOD SPCIMENS ACCORDING TO THE SITE OF COLLECTION

1) الدم الوريدي Venous blood

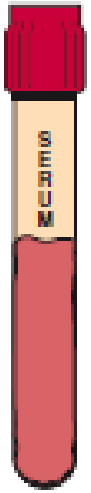
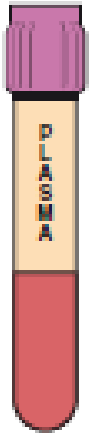
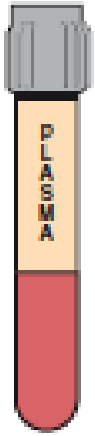
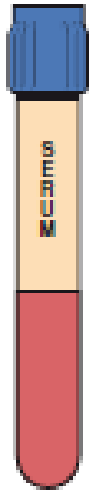
- **<u>بزل الوريد (*Phlebotomy, or venipuncture*)</u>:** هو عملية الحصول على عينة دم من الوريد باستخدام إبرة متصلة بسيرنغ أو أنبوب مفرغ من الهواء *Evacuated tube*.
- تختلف أحجام أنابيب جمع العينات من أحجام الأطفال (حوالي 150 ميكرولتر) إلى أنابيب أكبر (7 مل).
- تعتبر **أوردة الذراع** الموقع الأكثر شيوعًا لسحب عينات الدم الوريدي, وهي بشكل أساسي:
  الوريد الرأسي Cephalic,
  والناصف Median والقاعدي Basilic).



- **تستخدم ضاغطة Tourniquet** مصنوعة من أنابيب مطاطية مرنة أو بشكل شريط, حيث تربط حول الذراع بهدف إبطاء عود الدم الوريدي Cessation of blood flow, وإحداث تمدد في الأوردة Dilation of veins، مما يسهل اكتشافها.

- يجب تجنب سحب الدم من المواقع المجاورة لأماكن العلاج الوريدي Intra-venous (IV) therapy.
- إذا كان كلا الذراعين مستخدما في العلاج الوريدي فيجب البحث عن موقع سابق Up-stream لمكان إدخال العلاج وليس بعده, حيث يوقف التسريب الوريدي لعدة دقائق قبل سحب العينة ويتم التخلص من العينة الأولية المسحوبة (حوالي 5 مل).

SAMPLING EVACUATED TUBES FOR SPECIFIC BIOCHEMICAL TESTS

Plain tube:no anticoagulant Clot forms	Plain tube: contains SST gel	EDTA anticoagulant	Lithium heparin anticoagulant	Fluoride oxalate	Trace element	Heparinized syringe
						
• General	• General	• Whole blood analysis • Red cell analysis • Lipids and lipoproteins	• General	• Glucose • Lactate • Alcohol	• Copper • Zinc	• Arterial blood sampling

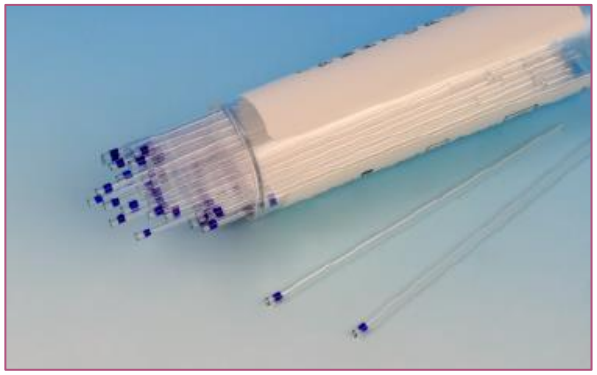
Continued metabolism may occur if the serum or plasma remains in contact with the cells for any period. Evacuated tubes may incorporate plastic, gel-like material that serves as a barrier between the cells and the plasma or serum.

2) الدم الشعري Capillary blood :

❖ عند عدم الحاجة لكميات كبيرة من الدم, تستخدم عينات الدم الشعري التي يتم أخذها عادةً من:

1. الجزء السفلي من القدم (كعب القدم).
2. الجزء الأخير (السمين) من أصابع اليد الثالث (الخنصر) أو الرابع (البنصر).
3. شحمة الأذن.

❖تستخدم أداة ثقب حادة لاختراق الجلد ويستخدم أنبوب شعري (أنبوب زجاجي ضيق قصير) لجمع العينات.



3) الدم الشرياني Arterial blood :

- تستخدم عينات الدم الشرياني بشكل خاص **لقياس غازات الدم** (الضغط الجزئي لكل من الأكسجين وثاني أكسيد الكربون) **ودرجة الحموضة pH.**
- تستخدم **المحاقن العادية (السيرنغات)** بدلاً من الأنابيب المفرغة من الهواء بسبب الضغط الدموي العالي في الأوعية الدموية الشريانية.
- **يعتبر بزل الشرايين أكثر صعوبة من بزل الأوردة** (حيث يتم تنفيذها عادة في المستشفيات) وذلك بسبب:

a) الضغط الدموي الشرياني العالي.
b) عدم توضعها بشكل سطحي كما في الأوردة.
c) صعوبة انطباقها بعد البزل وبالتالي صعوبة في وقف النزيف.
d) إمكانية حدوث ورم دموي Hematoma غير مرغوب فيه، والذي سيؤدي إلى قطع إمدادات الدم إلى الأنسجة المحيطة.

COLLECTION OF SPECIMENS جمع العينات

- **من أجل إجراء تحليل كيميائي حيوي لابد من توفر مايلي:**

1. إشارة واضحة للتحليل المطلوب Clear indication of the requested analyses.
2. جمع عينة مناسبة للتحليل المطلوب Correct specimen for the requested test.
3. إشارة إلى المرض المشتبه به Indication of the suspected pathology
4. المعلومات الضرورية التي ستضمن عودة النتائج إلى الشخص الذي قام بطلبها في أقل وقت ممكن.
5. لصاقة تشير إلى هوية المريض Patient ID labelling.

- **يتم الحصول على هذه المعلومات إما من خلال:**

(a **طلب تحليل تقليدي traditional request form**

(b **أو بشكل الكتروني electronically** حيث ترسل العينة فقط إلى المخبر مع لصاقة تحمل إشارة إلى هوية المريض بالاضافة إلى Bar-code يسمح بالوصول إلى كامل المعلومات الخاصة بالعينة والتحاليل المطلوب إجراءها عليها.

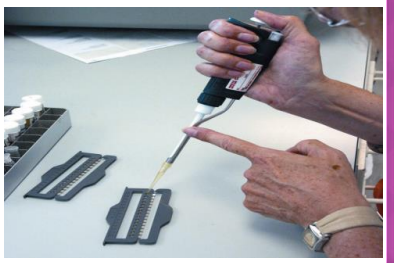
TESTS PERFORMANCE

1. **Automated and computerized methods:**

Range from large, automated instruments capable of performing multiple tests on single serum samples, to relatively simple instruments designed to measure only one or a few analytes (They generate results quickly, reliably and economically).

2. **Commercially prepared reagents 'kit', and Manual methods:**

Used for Less frequently performed tests (They are more complex and expensive tests, and may take longer time to be completed).



الأخطاء المخبرية LABORATORY ERRORS

- تعد الأخطاء المخبرية نادرة الحدوث, نظرا للنظام المخبري متعدد المراحل Multi-step system بالإضافة إلى عمليات ضبط الجودة المستمرة Quality control.

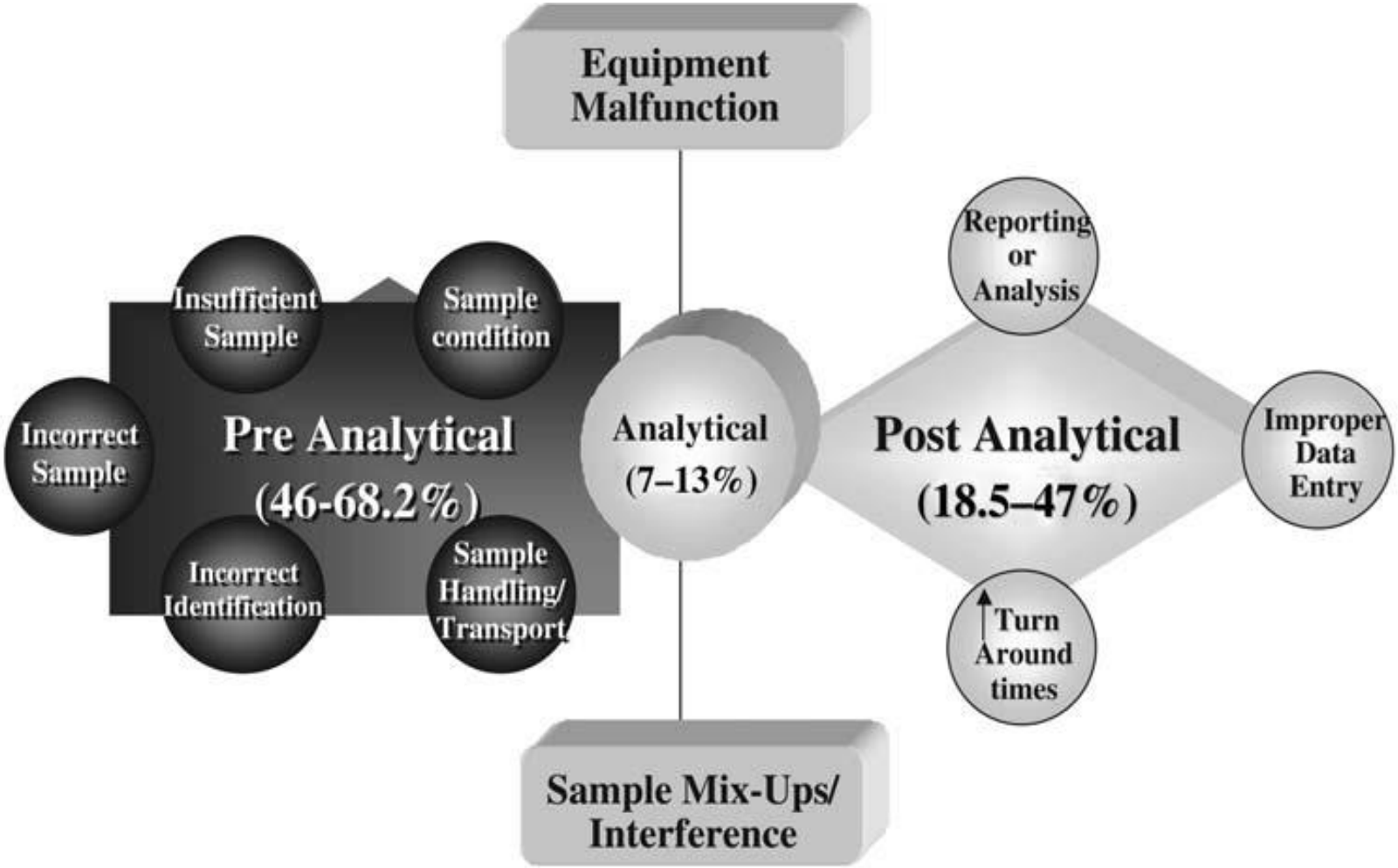
- **يمكن تصنيف الاخطاء تبعا لمصدرها إلى:**

1) **أخطاء قبل تحليلة Pre-analytical (أخطاء الاعتيان Sampling errors):** تقع هذه الاخطاء بشكل سابق لإجراء التحليل المطلوب, وعادة ماتحدث في العينة المطلوب أخذها **(تحدث معظم الأخطاء المخبرية على هذا المستوى).**

2) **أخطاء تحليلة Analytical:** تعد الاخطاء التحليلة نادرة, إلا انها ممكنة الوقوع مثل: تلوث الكواشف أو تخربها, أخطاء في أخذ العينة بالممصات أثناء إجراء التحليل وخاصة العينات صغيرة الحجم, أخطاء في إدخال معلومات العينة إلى الحاسوب وغيرها.

3) **أخطاء بعد تحليلة Post-analytical:** وهي نادرة أيضا, قد تحدث أثناء إدخال النتائج إلى الحاسوب بشكل يدوي أو عند نقل النتيجة هاتفيا إلى الطبيب الذي قام بطلبها.

Types and rates of error in the three stages of the laboratory testing process



SAMPLING ERRORS أخطاء الاعتيان

- ***Blood sampling technique:*** Difficulty in obtaining a blood specimen may lead to **haemolysis** with consequent release of potassium, LDH and other red cell constituents.

- ***Prolonged stasis during venipuncture:*** Plasma water diffuses into the interstitial space and the serum or plasma sample obtained will be concentrated. Protein and protein-bound components of plasma, such as calcium or thyroxine, will be falsely elevated.

- ***Insufficient specimen:*** It is impossible for the laboratory to measure everything requested on a small volume.

- ***Errors in timing.*** Measurement of glucose without fasting for more than 8h.

- ***Incorrect specimen container.*** For example, blood that has been exposed, even briefly, to EDTA, will have a markedly reduced calcium concentration, approaching zero. Samples for glucose testing must contain fluoride which inhibits glycolysis.

- ***Inappropriate sampling site.*** Blood samples should not be taken 'downstream' from an intravenous drip. For blood glucose, specimen is not taken from the same arm into which 5% glucose is being infused.

- ***Incorrect specimen storage.*** K, P and LDH will be falsely elevated in blood sample stored overnight.

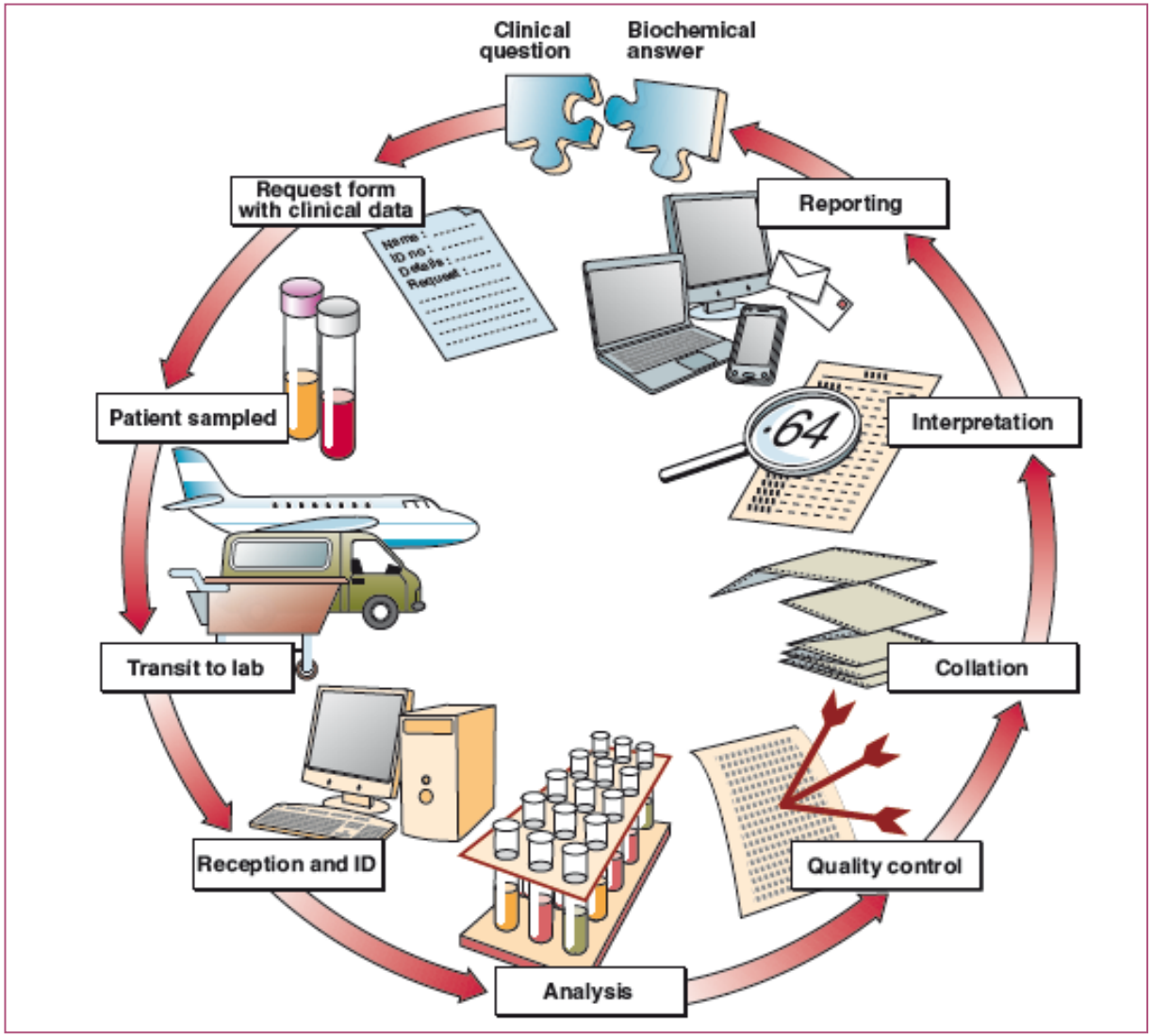
SAMPLE STORAGE حفظ العينات

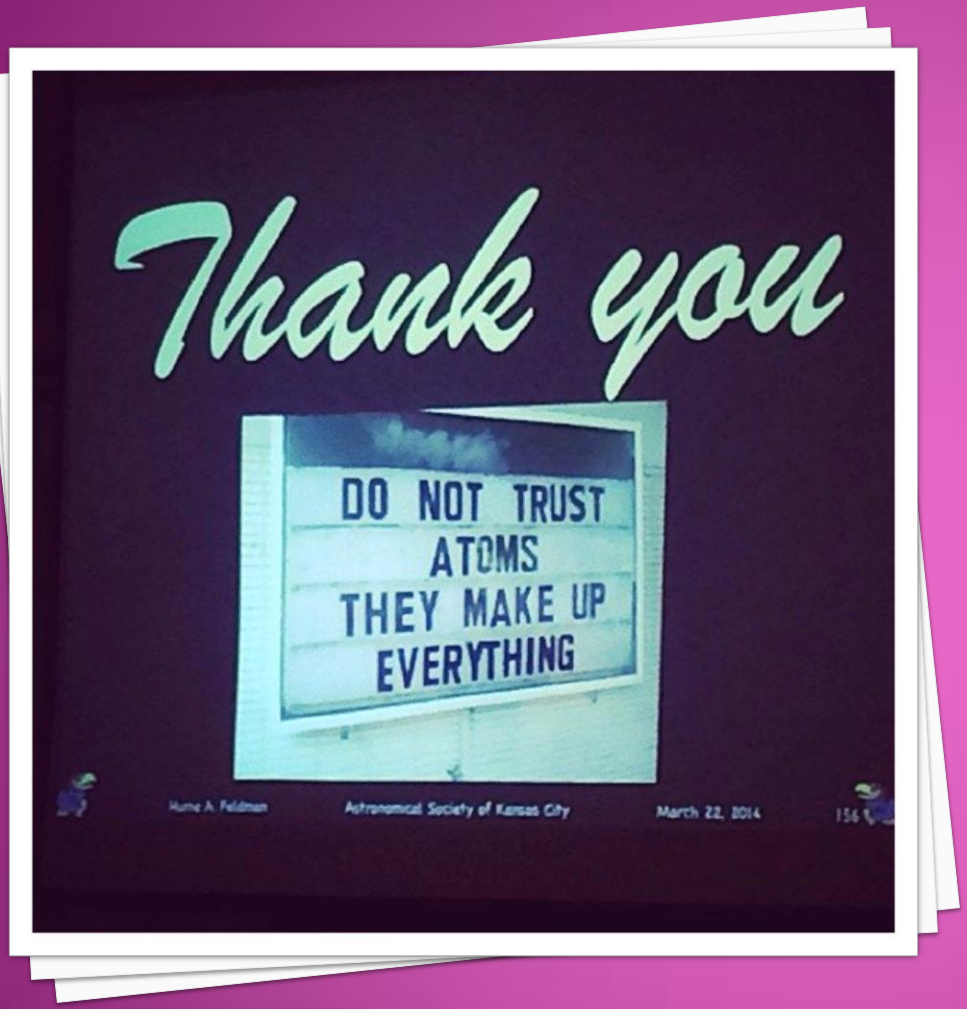
- Samples should be analyzed **within 4 hours**; to minimize the effects of evaporation, samples should be properly **capped** and **kept away from areas of rapid airflow, light, and heat.**
- If testing is to occur after that time, samples should be **refrigerated at 4°C for 8 hours**. Many analytes are stable at this temperature, with the exception of alkaline phosphatase (increases) and lactate dehydrogenase (decreases).
- Samples could be **frozen at -20°C** and stored for longer periods without deleterious effects on the results.
- Repeated cycles of freezing and thawing should be avoided.

SPECIMEN ANALYSING AND DATA REPORTING:

- Once the request form and specimen arrive at the laboratory reception, they are matched with a **unique identifying number or bar-code.**
- All analytical procedures are **quality controlled** and the laboratory strives for reliability.
- Once the results are available they are **collated and a report is issued.**
- **Cumulative reports** allow the clinician to see how the most recent result(s) compare with those tests performed previously, providing an aid to the monitoring of treatment.

Circuit diagram of the clinical biochemistry process




Thank you
DO NOT TRUST
ATOMS
THEY MAKE UP
EVERYTHING
Hume A. Feldman
Astronomical Society of Kansas City
March 22, 2014

THE END