

ЗАКРЫТЫЕ ВАКУУМНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЗЯТИЯ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ: ВОПРОСЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ И БЕЗОПАСНОСТИ

Т. И. Долгих, д. м. н., проф. кафедры эпидемиологии, зав. лабораторией, рук. Центра Центральная научно-исследовательская лаборатория, Академический центр лабораторной диагностики Омской государственной медицинской академии, г. Омск

Резюме

Автор статьи делится собственным опытом работы по повышению качества лабораторных исследований и получению качественных образцов венозной крови. Показаны преимущества использования специальных вакуумных пробирок для проведения иммунохимических, иммунологических, гематологических биохимических и молекулярногенетических методов исследований.

Ключевые слова: преаналитика, стандартизация, венозная кровь, иммунология, иммунохимические исследования, гематологические исследования, биохимические исследования, молекулярно-генетические исследования, вакуумные пробирки, иглы, оценка качества.

Summary

The author shares her own experiences of improving quality of clinical lab tests and obtaining of high-quality venous blood samples. The advantages of vacuum tubes have been demonstrated for immunochemistry, immunological, hematological biochemical and molecular genetic lab tests.

Keywords: Preanalytical stage, standardization, venous blood, immunology, immunohistochemical tests, blood tests, biochemical, molecular and genetic tests, vacuum tubes, needles, quality assessment.

В России в последние годы особое внимание уделяется внедрению системы менеджмента качества - СМК (А.В.Эмануэль, О.А.Тарасенко, О.Н.Осипова, 2009). В формате стандартизации лабораторных исследований, обеспечения аналитической надежности и обеспечения безопасности работы персонала в наиболее прогрессивных лабораториях взят курс на соблюдение требований национального стандарта ГОСТ Р ИСО 15189-2009 (В.В.Меньшиков, 2012).

В условиях модернизации здравоохранения возникает много вопросов дискуссионного характера, требующих оценки рисков, способных негативно влиять на качество работы лаборатории (в частности) и учреждения (в целом) и снижать эффективность управления их деятельностью (Ю.В.Эмануэль, А.Л.Хотин, 2009; Т.И. Долгих, 2012). До настоящего времени слабым звеном в управлении качеством остается преаналитический (долабораторный) этап, на котором осуществляется взятие биологического материала (чаще – венозной крови). Процедура взятия крови представляет собой существенный риск профессионального заражения медицинского персонала возбудителями парентеральных инфекций (ВИЧ, вирусы гепатитов В и С и др.). Это касается как медицинских сестер и врачей, осуществляющих процедуру флеботомии, так и сотрудников лаборатории среднего и высшего звена, работающих с

образцом биоматериала, включая его прием, сортировку, подготовку к исследованию и непосредственно анализ.

Распространение ВИЧ-инфекции в нашей стране способствовало переходу к использованию закрытых систем взятия крови, используя опыт профилактики парентеральных инфекций в мире. За последнее десятилетие Россия прошла сложный путь по внедрению систем безопасного взятия крови и использованию пластиковых (небьющихся) пробирок.

Можно выделить 3 этапа развития данного процесса. *Первый этап – изменение стратегии безопасности пациентов и медицинского персонала на основе внедрения новой технологии взятия крови.* Этап перехода от взятия крови открытым методом (забор крови шприцем с последующим переносом в стеклянную пробирку либо самотеком в пробирку при проколе вены иглой) к закрытой безопасной системе оказался длительным и весьма сложным в силу сложившегося стереотипа организаторов здравоохранения и заведующих лабораториями. При этом учитывалась только часть финансовой составляющей диагностического процесса (сравнение цены шприца со стеклянной пробиркой и цену системы взятия крови и пластиковой пробирки), пренебрегая другими составляющими материальных ресурсов и безопасностью.

Второй этап развития - обеспечение качества лабораторных исследований - напрямую связан с модернизацией лабораторной службы и внедрением дорогостоящих автоматических анализаторов и аналитических систем, обеспечивающих внутренний контроль качества. Именно на этом этапе стали проявлять себя такие факторы, как низкое качество крови (плазмы, сыворотки) при её взятии в стеклянную пробирку многократного применения и наличие примесей дезинфицирующих (чаще – хлорсодержащих) веществ. Это снижало достоверность анализа, приводило к значительным погрешностям в работе и ошибкам. Переход на использование пробирок однократного применения решал многие вопросы и однозначно привел к повышению достоверности и воспроизводимости результатов анализа крови.

Третий этап – внедрение системы менеджмента качества и стандартизация лабораторных исследований в формате обеспечения биологической безопасности. В условиях централизации ему отводится решающая роль в обеспечении управления качеством (как многокомпонентной системы) и соответствия требованиям национальных стандартов. Развитие замкнутых систем взятия крови и опыт мировой практики способствовали внедрению новых инженерных решений в технологию безопасности при взятии крови. Использование системы BD Vacutainer® для взятия венозной крови, состоящей из одноразового держателя, двусторонней иглы и вакуумной пробирки, обеспечивает прямой поток крови из вены в пробирку, снижение уровня гемолиза и содержание гемоглобина в плазме не выше $0,16 \pm 0,16$ г/л (Miriam Almagor, Ofri Lavid-Levy, 2001). В работе Академического центра лабораторной диагностики Омской государственной медицинской академии по желанию медицинских сестер,

осуществляющих флеботомию, предпочтение отдано иглам для взятия крови с прозрачной камерой BD Vacutainer® Flashback и иглам BD Vacutainer® Eclipse™с защитным колпачком, при активации которого резко снижается риск разбрызгивания крови при активации защитного колпачка до не более чем 11% случаев (VS5940). Для взятия крови из труднодоступных мест постоянно используются «иглы-бабочки» BD Vacutainer® Safety Lok™ и BD Vacutainer® Push Button, позволяющие достичь полного снижения признаков гемолиза в образцах крови (VS7372). При этом использование игл-бабочек BD Vacutainer® Push Button позволяет снизить уровень аэрозольного эффекта до 86,7% случаев, а игл-бабочек BD Vacutainer® Safety Lok™ - до 100% (VS7372).

Вместе с тем, выполнение требований в отношении достоверности анализа проб во многом зависит от взаимоотношений между персоналом, участвующим в процессе организации и реализации процедуры взятия крови. Эти требования регламентированы в национальном стандарте ГОСТ Р 53079.3-2008 (часть 3 и часть 4).

Развитие лабораторных технологий привело к высоким требованиям к результатам лабораторных исследований, которые уже определены (В.В.Меньшиков, 2012):

- Достоверность (аналитическая, биологическая, медицинская).
- Сопоставимость (независимо от времени, места, методики анализа).
- Оперативность (с учетом темпа патологического процесса, сроков клинических решений и лечебных действий).
- Эффективность (соотношение расхода ресурсов и медицинского эффекта).

При разработке системы сбалансированных показателей по управлению качеством (независимо от централизации или децентрализации лабораторных исследований) особое внимание следует уделить регламенту взаимодействия клинической и лабораторной служб внутри учреждения и(или) с субподрядными организациями (лабораториями). Статистические данные свидетельствуют о том, что «причины недостоверной лабораторной информации, в значительной мере, коренятся вне лаборатории» (В.В.Меньшиков, 2012). При определении процессов, наиболее критичных для качества преаналитического и аналитического этапов, а также в целях обеспечения безопасности работы медицинского персонала, следует учитывать *два наиболее важных фактора: необходимость использования закрытых систем взятия крови и выбор пробирок, адекватных по объему и составу наполнителей в соответствии с задачами исследования крови* (ГОСТ Р 53079.3-2008. Часть 4).

При отработке механизма внедрения СМК в части обеспечения преаналитического этапа нами была проведена оценка эффективности лабораторного обеспечения, при которой учитывались требования ГОСТ Р 53079.4-2008 (Часть 3. Часть 4) и ГОСТ Р 53133.4-2008 (Часть 4).

Анализ показал, что медицинские сестры крупных и специализированных учреждений, работающие с закрытыми вакуумными системами, разбираются в основном в 5 видах пробирок, предназначенных: для исследования сыворотки (активатор свертывания – кремнезем, пробирки с красной крышкой), для исследования цельной крови (наполнитель - ЭДТА; пробирка с сиреневой крышкой), для исследования плазмы (наполнитель - гепарин, пробирка с зеленой крышкой), для исследования коагуляции (наполнитель - цитрат натрия, пробирка с голубой крышкой). Медицинские сестры общеклинической сети практически используют два вида пробирок: для сыворотки (с красной крышкой) и исследования цельной крови (клинический анализ крови).

Вместе с тем, 82% медицинских сестер имели сомнительное представление о других пробирках и их предназначении (для ускоренного получения сыворотки крови, для исследования на глюкозу, гликозилированный гемоглобин, лактат, ионизированный кальций, для молекулярно-генетических исследований – определение ДНК/РНК или вирусной нагрузки ВИЧ, вируса гепатита В, вируса гепатита С), а также об особенностях взятия крови у пациентов на фоне терапии антикоагулянтами. Медицинские сестры не уточняли факт приема препаратов, полагаясь на врачей, которые должны были делать отметку в направлении на исследование. Оказалось, что врачи терапевтического профиля не делают такую отметку, поскольку не придавали этому значение. Опыт работы указывает на более высокую частоту ошибок при взятии крови для исследования коагуляции.

Эти причины приводили к перезабору крови из-за невозможности выполнения анализа (неадекватный наполнитель пробирки), к расхождению результатов оценки системы гемостаза и иммунной системы (иммунофенотипирование) или детекции генетического материала вирусов (в полимеразной цепной реакции - ПЦР), полученных в различных лабораториях, что снижало аналитическую надежность и соответственно клиническую значимость тестов.

С учетом вышесказанного, в целях стандартизации преаналитического этапа в процессе разработки «Руководства по управлению качеством» и «Руководства по взятию первичной пробы» (п. 4.6; п. 4.11 и п. 5.4 ГОСТ Р ИСО 15189-2009), нами был проведен анализ доступных на отечественном рынке пробирок с соответствующими наполнителями. При этом среди критериев выбора были как обеспечение стабильности аналита, так и хранение пробы в течение времени, достаточного для транспортировки крови из различных учреждений в Центр лабораторной диагностики.

Оптимальным является применение нижеуказанных пробирок.

1. Для ускоренного получения сыворотки крови следует использовать BD Vacutainer® RST (активатор свертывания – тромбин; пробирки с оранжевой резиновой пробкой). Их существенным отличием является *время образования сгустка не более 5 минут*

(VS7603, VS8900), что позволяет проводить центрифугирование для быстрого отделения сыворотки, особенно в случаях экспресс-анализа пробы, при низком риске возникновения гемолиза - не более 2,71% (VS8111). Использование пробирок этого типа гарантирует не более 2% ложно-положительных результатов на изофермент креатинкиназы, гонадотропин и тиреотропный гормон (Frederick G. Strathmann, Michael M. Ka, Petrie M. Rainey, Geoffrey S. Baird, 2011) и обеспечивает стабильность *женских половых гормонов и сердечных маркеров* при хранении сыворотки в течение не менее 24 час при комнатной температуре (VS 7606).

2. Для обеспечения стабильности *глюкозы, лактата и гликозилированного гемоглобина* - использование пробирки BD Vacutainer® с фторидом и ЭДТА (с серой крышкой), поскольку они соответствуют требованию хранения пробы в течение не менее чем 24 часа при температуре от +4°C до +25°C (VS 8899; VS 7594).

3. Для исследования образцов плазмы - использование пробирок BD Vacutainer® PST™ с гепарином и разделительным гелем. Использование этих пробирок позволяет стабилизировать *ионизированный кальций* в плазме в течение 7 час после взятия крови при температуре от +4°C до +25°C - (Haverstick DM, Brill LB, Scott MG, Bruns DE., 2009).

4. При *проведении биохимических и серологических исследований* следует использовать пробирки BD Vacutainer® с красной крышкой (активатор свертывания - кремнезем). Нанесенный напылением на внутренние стенки пробирки кремнезем не оказывает влияние на антигены и антитела при проведении тестов и на ABO/Rh (VS7266).

5. Для *ускоренного получения сыворотки (для различных целей), сохранения качества первичной пробы крови при её транспортировке в другие лаборатории, а также для хранения крови в первичной пробирке (без аликвотирования)* необходимо использовать пробирки с желтой крышкой с разделительным гелем (активатор свертывания – кремнезем) - BD Vacutainer® SST™ II Advance. Уникальностью пробирки является *скошенное расположение геля*, что обеспечивает эффективную сепарацию сыворотки и сгустка, а также стабильность аналитов в течение не менее 48 часов после центрифугирования (O'Keane, Myra P. Cunningham, Sean K., 2006). При этом доказано снижение риска возникновения гемолиза проб при использовании пробирок BD Vacutainer® SST™ II Advance до уровня не более чем в 6% случаев (VS8111).

6. Забор крови для *скрининга, диагностики и мониторинга ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов В и С* в пробирки с гелем BD Vacutainer® SST™ II Advance обеспечивает сохранность как *антигенов вирусов (HIV P24, антиген-НСV, HBs-антиген)*, так и *антител к антигенам* различных возбудителей. В этой же пробе определяется и уровень *аланинаминотрансферазы (АЛТ)*, что позволяет исключить забор крови в дополнительную пробирку (Gobin E, Desruelle JM, Vigier JP, 2001).

7. При оценке *параметров активации тромбоцитов* можно использовать пластиковые пробирки BD Vacutainer® с К2ЭДТА, что не влияет на активацию тромбоцитов в течение 4 часов после взятия образца крови (Van Cott EM, Fletcher SR, Kratz A., 2005).

8. При проведении коагулологических тестов – пластиковые пробирки BD Vacutainer® с цитратом. Доказано, что их использование не оказывает влияние на параметры коагуляции за счёт использования цитрата натрия в концентрации 3.2% (Alexander Kratz, MD, PhD, MPH; Nancy Stanganelli, MT; Elizabeth M. Van Cott MD, 2006). При проведении же тестов на АЧТВ у пациентов, находящихся на терапии нефракционированным гепарином, для взятия крови следует использовать стеклянные пробирки BD Vacutainer® со СТАД. Это позволяет устранить возможный источник преаналитических ошибок при проведении тестов на АЧТВ у такой категории пациентов (VS5816).

9. Для обеспечения стабильности *аналитов в плазме* в течение 24 час после центрифугирования и аликвотирования плазмы (хранение - при температуре от +4°C до +25°C) кровь следует забирать в пробирки с зеленой крышкой - BD Vacutainer® с гепарином лития (VS7174).

10. В случае транспортировки *для получения плазмы* целесообразно проводить забор крови в пробирки с разделительным гелем (светло-зеленая крышка) - BD Vacutainer® PST™.

11. Особые требования, предъявляемые к *исследованию микроэлементов*, регламентируют проводить забор крови в пробирки BD Vacutainer® с темно синей крышкой (активатор свертывания в пластиковых пробирках - К2ЭДТА, в стеклянных – гепарин натрия).

12. Для исследования *нестабильных гормонов* – используются стеклянные пробирки BD Vacutainer® с ЭДТА и аprotинином (с розовой крышкой).

13. Для выделения *мононуклеаров* (иммунологические исследования) кровь следует забирать в стеклянные пробирки BD Vacutainer® СРТ™ с сине-черной пробкой (цитрат натрия/фиколл/гель) или с красно-зеленой пробкой (гепарин натрия/фиколл/гель). Разделение клеток в градиенте плотности фиколла при центрифугировании значительно ускоряет исследование и увеличивает количество анализируемых проб. В случае предполагаемого исследования методом ПЦР забор крови в пробирки с красно-зеленой пробкой проводить не следует (ввиду ингибирующего действия гепарина).

14. Для *иммуногематологии* забор крови должен осуществляться в стеклянные пробирки BD Vacutainer® АСD с крышкой лимонно-желтого цвета.

Таким образом, пройдя сложный путь внедрения закрытых систем взятия крови в практику Россия вступила в третий этап развития лабораторной медицины, основанного на управлении качеством и внедрении национальных стандартов. Дальнейший прогресс отечественной медицины и эффективность дальнейшей работы по повышению качества

лабораторных исследований напрямую связаны с использованием вакуумных пробирок специального назначения для проведения иммунохимических, иммунологических, гематологических биохимических и молекулярно-генетических методов на основе мирового опыта их применения.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р ИСО 15189-2009 Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности.
2. ГОСТ Р 53079.3-2008 Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила взаимодействия персонала клинических подразделений и клинико-диагностических лабораторий медицинских организаций при выполнении клинических лабораторных исследований.
3. ГОСТ Р 53079.4-2008 Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа.
4. ГОСТ Р 53133.4 -2008. Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила проведения клинического аудита эффективности лабораторного обеспечения деятельности медицинских организаций.
5. Долгих Т.И. Проблемные вопросы лабораторной медицины в условиях модернизации здравоохранения // Клинико-лабораторный консилиум. – 2012. - №2 (42). – С. 4-6.
6. Меньшиков В.В. Зачем клинической лаборатории нужна стандартизация? // Учебно-методическое пособие. М.; «Лабора», 2012. – 71 с.
7. Эмануэль А.В., Тарасенко О.А., Осипова О.Н. Организация системы менеджмента качества в лабораторной медицине // Лаборатория – 2009. - № 4. – С. 21-24.
8. Эмануэль Ю.В., Хотин А.Л. Применение системы менеджмента качества в организациях здравоохранения. Часть 1. // Клинико-лабораторный консилиум. – 2009. - № 2(27). – С.4-12.
9. O'Keane, Myra P. Cunningham, Sean K. Evaluation of three different specimen types (serum, plasma lithium heparin and serum gel separator) for analysis of certain analytes: clinical significance of differences in results and efficiency in use // Clin Chem Lab Med. 2006;44(5):662-8
10. Gobin E, Desruelle JM, Vigier JP. Evaluation of the analytic performance of blood collection tubes (BD Vacutainer SST) for the screening of anti-HIV, anti-HTLV, anti-HCV, anti-HBc, anti-CMV antibodies, and of HBs, P24 HIV antigens, and of alanine aminotransferase //Transfus Clin Biol. 2001 Feb;8(1):44-50

11. Birger Mensel, Ulrike Wenzel, Markus Roser, Jan Lu'demann, Matthias Nauck. Considerably Reduced Centrifugation Time without Increased Hemolysis: Evaluation of the New BD Vacutainer®SST™II Advance // *Clinical Chemistry* 53, No. 4, 2007;
12. Van Cott EM, Fletcher SR, Kratz A. Effects of the blood-collection tube material and long-term storage on platelet activation parameters on the ADVIA 120/2120 hematology system // *Lab Hematol.* 2005;11(1):71-5.
13. Alexander Kratz, MD, PhD, MPH; Nancy Stanganelli, MT; Elizabeth M. Van Cott MD A Comparison of Glass and Plastic Blood Collection Tubes for Routine and Specialized Coagulation Assays A Comprehensive Study // *Arch Pathol Lab Med*—Vol 130, January 2006
14. Frederick G. Strathmann, Michael M. Ka, Petrie M. Rainey, Geoffrey S. Baird. CME/SAM Use of the BD Vacutainer Rapid Serum Tube Reduces False-Positive Results for Selected Beckman Coulter Unicel DxI Immunoassays // *Am J Clin Pathol* 2011;136:325-329;
15. Haverstick DM, Brill LB 2nd, Scott MG, Bruns DE. Preanalytical variables in measurement of free (ionized) calcium in lithium heparin-containing blood collection tubes // *Clin Chim Acta.* 2009 May;403(1-2):102-4. Epub 2009 Feb 4;
16. Miriam Almagor, Ofri Lavid-Levy. Effects of Blood-Collection Systems and Tubes on Hematologic, Chemical, and Coagulation Tests and on Plasma Hemoglobin // *Clinical Chemistry* 47, No. 4, 2001
17. VS 8899 // Evaluation of the Effects on Glucose and Lactate Using Two Different Centrifugation Forces in a Range of BD Vacutainer® Glucose Tubes Over Time, 2011
18. VS 7594 // A Comparative Evaluation of BD Vacutainer® Plus Fluoride/EDTA Tubes for Glucose & HbA1c Preservation After 24 Hours Storage at Room Temperature, 2007
19. VS7174 // Comparison of BD Vacutainer® Lithium Heparin Plus Tubes with BD Vacutainer® Lithium Heparin Glass Tubes for Routine Chemistry Analytes, 2004
20. VS 7266 // A Multi-site Evaluation of BD Vacutainer® Serum Plus Tubes for Immunohematology Parameters, 2004
21. VS5816 // Evaluation of BD Vacutainer™ 2.7 Ml Glass CTAD (Sodium Citrate, Theophylline, Adenosine and Dipyridamole) Coagulation Tube with Normal Donors, Donors on Oral Anticoagulant Therapy and I.V. Anticoagulant, 2001