

Забезпечення точності та інформативності визначення біологічно активних речовин у плазмі крові

О.В. Ткаченко, Ю.С. Бублій

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

У статті систематизовано та викладено основні етапи підготовки зразків плазми крові для дослідження вмісту в них біологічно активних речовин. Зроблено висновок про необхідність урахування показника гематокриту при приготуванні проб для забезпечення якості, точності, відтворюваності та інформативності наукових та клінічних лабораторних досліджень.

Ключові слова: плазма крові, лабораторні дослідження, біологічно активні речовини, гепарин, серотонін, гістамін.

Проблема забезпечення якості лабораторних досліджень є Поднією із ключових у лабораторній медицині і стає все актуальнішою [2, 4, 6]. Точність і інформативність наукових і клінічних лабораторних досліджень залежить від дотримання цілої низки умов [1, 3, 5]. До них, насамперед, належать: дотримання правил взяття крові, отримання плазми та її зберігання; якість реактивів і лабораторного посуду, що застосовується; урахування факту призначення хворому лікарських засобів, що впливають на досліджувані параметри; вибір оптимальних методик та схем лабораторних досліджень; рівень кваліфікації науковців чи лаборантів, які проводять дослідження, тощо [1–8]. Під час підготовки до проведення наукового пошуку, пов'язаного із дослідженням вмісту біологічно активних речовин у плазмі крові певної категорії хворих, у доступній літературі ми не зустріли узагальнювальних даних щодо особливостей взяття та оброблення крові для їхнього дослідження, що і спонукало нас до даного дослідження.

Мета дослідження: систематизувати та узагальнити дані літератури стосовно особливостей взяття і оброблення крові, розробити практичні рекомендації для підвищення точності та якості при дослідженні вмісту біологічно активних речовин у плазмі крові, зокрема гепарину, гістаміну, серотоніну.

У результаті аналізу літератури, що присвячена проблемі визначення вмісту біологічно активних речовин у плазмі крові, зокрема гепарину, серотоніну, гістаміну тощо, ми провели систематизацію даних, узагальнили відомості та розробили практичні рекомендації щодо особливостей взят-

тя крові та її стабілізації для наукових та клінічних досліджень. Вони полягають у наступному.

1. Важливою ланкою забезпечення точності і відтворюваності результатів досліджень є чистота реактивів, лабораторного посуду і правильність його оброблення. Для дослідження в крові та її плазмі біологічно активних речовин, зокрема таких, як гепарин, гістамін, серотонін тощо, застосовують силіконований посуд. Для силіконування пробірок, флаконів, скляних піпеток тощо 10% розчин силікону (ПМС-400, ПМС-500) в хлороформі переливають із пробірки в пробірку, які потім перевертають на 5–10 хв на фільтрувальний папір для вилучення залишків розчину. Силіконування піпеток проводять за допомогою гумової груші, яку вдягають на неробочий кінець піпетки. Розчином силікону заповнюють лише градуйовану частину піпетки. Процедуру силіконування виконують у витяжній шафі. Повторне оброблення силіконом лабораторного посуду проводять після 2–3-кратного використання. Голки разового використання обробляють аналогічним чином і ретельно промивають стерильним розчином стабілізатора безпосередньо перед венопункцією.

2. Кров при дослідженні вмісту біологічно активних речовин у плазмі беруть вранці в один і той самий час, натщесерце із ліктьової вени силіконованою товстою голкою без шприца, самовитіканням. Застосування шприца є неприпустимим через активацію тромбоцитів і факторів згортання крові турбулентним рухом крові і її змішування з повітрям, припустимо лише короточасне накладання джгута. У низці клінічних ситуацій, наприклад у разі шоку, вилучення крові із ліктьової вени є проблематичним через низький тиск. У таких випадках кров для досліджень забирають із підключичного катетера, але необхідно пам'ятати про можливість забруднення крові гепарином.

3. Для стабілізації кров змішують із 3,8% розчином цитрату натрія у співвідношенні 9:1. На даному етапі припускаються наступних помилок. Перша із них – помилка точності і правильності приготування розчину стабілізатора. Важливо враховувати, що трьохзаміщений 5,5-водний цитрат натрію готують у концентрації 3,8% (0,11 М), а 2-водний – у концентрації 3,2%. Зберігання цитрату припустимо протя-

Таблиця

Співвідношення об'ємів 3,8% розчину цитрату натрію і крові залежно від величини гематокриту (З.С. Баркаган, А.П. Момот, 2001)

Показник гематокритного числа, %	Об'єм антикоагулянта, мл	Об'єм крові, мл
20-21	1,4	8,6
22-27	1,3	8,7
28-33	1,2	8,8
34-39	1,1	8,9
40-45	1,0	9,0
46-51	0,9	9,1
52-57	0,8	9,2
58-60	0,7	9,3
Понад 65	0,5	9,5

гом одного тижня при $+2...+8^{\circ}\text{C}$, а триваліше зберігання супроводжується бактеріальним забрудненням і зниженням концентрації цитрату натрію. Друга помилка полягає у тому, що загально вживане співвідношення 9:1 є вірним лише за нормального гематокритного числа. Натрія цитрат не проникає внутрішньоклітинно, а тому за високого гематокритного числа у плазмі крові створюється надлишкова його концентрація, що супроводжується хибною гіпокоагуляцією. Навпаки, при зменшенні гематокритного числа, наприклад при анемії, виявляють хибну гіперкоагуляцію, і кров у пробірці може згорнутися ще до початку дослідження. Розрахунки об'єму стабілізатора відповідно до показника гематокритного числа дозволяють уникнути такої неточності (таблиця).

Третя помилка є однією із найчастіших погіршень при взятті крові. Вона полягає у недостатньому перемішуванні її із розчином стабілізатора. Для уникнення цього необхідно одразу ж після взяття потрібного об'єму крові шляхом повільного похитування перемішати вміст. Струшування є неприпустимим. Стабілізовану кров до центрифугування (у тому числі і в процесі транспортування) зберігають при кімнатній температурі $-+18...+22^{\circ}\text{C}$ не більше 1 год. Транспортування стабілізованих зразків крові на великі відстані і часте струшування супроводжується спотворенням результатів дослідження.

4. Важливим є вхідний контроль проб крові для досліджень. При цьому перевіряють маркування, уточнюють час взяття крові, реєструють проби, контролюють правильність і достатність отриманої кількості стабілізованої крові для досліджень (краще застосовувати градуйовані пробірки), відповідність кількості стабілізатора показнику гематокрита. Останній легко визначають автоматичними лічильниками крові або на гематокритній центрифугі. Здійснюють візуальний контроль на можливе спонтанне згортання крові, для чого пробірку повільно нахилиють у горизонтальній площині. Стабілізована кров не повинна мати згустків і щільних конгломератів. Зразки крові із згустками і ознаками гемолізу досліджувати не можна!

5. Для одержання багаті чи бідної тромбоцитами плазми

Обеспечение точности и информативности определения биологически активных веществ в плазме крови

Е.В. Ткаченко, Ю.С. Бублий

В статье систематизированы и изложены основные этапы подготовки образцов плазмы крови для исследования содержания в них биологически активных веществ. Сделан вывод о необходимости учета показателя гематокрита при приготовлении проб для обеспечения качества, точности, воспроизводимости и информативности научных и клинических лабораторных исследований.

Ключевые слова: плазма крови, лабораторные исследования, биологически активные вещества, гепарин, серотонин, гистамин.

крові її послідовно центрифугують. При цьому надзвичайно важливим є дотримання режиму центрифугування.

Для одержання плазми, що багата тромбоцитами, стабілізовану кров після врівноваження пробірок центрифугують при 1000 об/хв (140–160 g) протягом 5–7 хв. Більш значне прискорення призводить до збіднення плазми тромбоцитами, спотворює результати при визначенні кількості і функцій тромбоцитів у плазмі. Для отримання точних результатів необхідно визначити число оборотів на хвилину відповідно до радіуса ротора конкретної центрифуги. Одержану плазму без скаламучування відсмоктують силіконованою піпеткою із грушею або напівавтоматичною піпеткою з пластиковим наконечником і переносять в іншу пробірку для дослідження або повторного центрифугування для одержання бідної тромбоцитами плазми.

Для одержання бідної тромбоцитами плазми багату тромбоцитами плазму центрифугують при 3000–4000 об/хв (1200–1400 g) протягом 15 хв. При меншому прискоренні в плазмі залишається значна частина тромбоцитів, які зумовлюють недостатність ряду досліджень і тестів. Центрифугування проводять при кімнатній температурі. Багату і бідну тромбоцитами плазму зберігають до моменту дослідження при кімнатній температурі $-+18...+22^{\circ}\text{C}$ не більше 1–2 год.

ВИСНОВКИ

1. Для забезпечення точності, інформативності і відтворюваності результатів наукових і клінічних лабораторних досліджень необхідно неухильно дотримуватись правил приготування лабораторного посуду, реактивів, взяття крові.

2. Рекомендуємо враховувати співвідношення розчину стабілізатора і об'єму крові при визначенні вмісту біологічно активних речовин у плазмі крові, що забезпечить точність, інформативність і відтворюваність лабораторних досліджень.

Таким чином, дотримання правил виконання лабораторних досліджень біологічно активних речовин у плазмі крові хворих забезпечить належну якість діагностичних і наукових досліджень в перспективі.

Ensure the accuracy and informational content of determination of biologically active substances in blood plasma

Е.В. Ткаченко, Ю.С. Бублий

The article systematized and presented the basic stages of preparing plasma samples for the study of content of biologically active substances. The conclusion was made about the need to accounting the hematocrit in the preparation of samples for quality assurance, accuracy, reproducibility and informative scientific and clinical laboratory test.

Key words: blood plasma, laboratory studies, the biologically active substances, heparin, serotonin, histamin.

Сведения об авторах

Ткаченко Елена Васильевна – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9

Бублий Юлия Станиславовна – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9; тел.: (044) 483-16-61.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Видиборець Ю.С. Особливості отримання та стабілізації зразків крові для досліджень біологічно активних речовин / Ю.С. Видиборець // Тези доп. V Української конференції молодих вчених, присвяченої пам'яті акад. В.В. Фролькіса (23 січня 2004 р.). – К.: Ін-т геронтології АМН України, 2004. – С. 29–30.

2. Гаранина Е.Н. Качество лабораторного анализа / Е.Н. Гаранина. – М.: ТОО Лабинформ, 1977. – 192 с.

3. Голубева А.П. Проблемы организации экспертной деятельности по оценке качества медицинской помощи в амбулаторно-поликлинических учреждениях / А.П. Голубева //

Здравоохранение. – 1998. – № 11. – С. 13–19.

4. Зимин В.П. Мониторинг качества медицинской помощи: связь с управлением, экономикой стационара и страховыми медицинскими организациями / В.П. Зимин // Здравоохранение. – 1999. – № 8. – С. 145–153.

5. Лапин А. Контроль качества в лабораторной медицине / А. Лапин // Новости фармации и медицины. – 1994. – № 3. – С. 36–42.

6. Луньова Г.Г. Система експертизи клініко-лабораторних досліджень як складова моніторингу якості медичної допомоги / Г.Г. Луньова, Т.Д. Бахтеєва, Т.М. Калмикова // Лаб. діагностика. – 2000. – № 2. – С. 56–57.

Статья поступила в редакцию 03.11.2014