



Практикум специалиста

Берковский А.Л., Гемджян Э.Г., Мелкумян А.Л., Кишинец Р.С.,
Сергеева Е.В., Суворов А.В., Хурдин В.В., Меркулов Н.С.
Воспроизводимость результатов тестов гемостаза после суточного
хранения плазмы крови. Справочник заведующего КДЛ. 2022;5:68-74.

Воспроизводимость результатов тестов гемостаза после суточного хранения плазмы крови

Арон Леонидович Берковский

директор НПО РЕНАМ, «Общество больных гемофилией», к. б. н.,

Эдуард Георгиевич Гемджян

биостатистик лаборатории по изучению психических и неврологических
расстройств при заболеваниях системы крови ФГБУ «Национальный
медицинский исследовательский центр гематологии»,

Анна Леоновна Мелкумян

старший научный сотрудник НПО РЕНАМ, к. м. н.,

Роман Сергеевич Кишинец

руководитель группы адаптации НПО РЕНАМ,

Елена Владимировна Сергеева

руководитель производства НПО РЕНАМ,

Александр Владимирович Суворов

старший научный сотрудник НПО РЕНАМ, к. б. н.,

Вячеслав Викторович Хурдин

инженер группы адаптации НПО РЕНАМ,

Никита Сергеевич Меркулов

инженер группы адаптации НПО РЕНАМ

В проспективном исследовании проведены измерения проб крови 70 амбулаторных пациентов (32 мужчин и 38 женщин в возрасте от 26 до 65 лет) через 2 и 24 часа после взятия крови следующих основных коагулологических показателей: протромбинового времени, активированного частичного тромбопластинового времени и концентрации фибриногена. Взятие проб крови, их транспортировка и хранение проводились с использованием вакуумных пробирок с 3,2% трехзамещенным цитратом натрия (0,109 моль/л) производства UNIVAC (ООО «Эйлитон», Россия) и BD Vacutainer (Becton

Dickinson and Company, USA). Вариабельность (межсерийная), связанная с самой процедурой измерения, была незначима ($p > 0,70$), поэтому на результаты измерений не влияла. Проведенное исследование показало стабильную воспроизводимость результатов базовых тестов гемостаза через 24 часа хранения образцов плазмы крови при комнатной температуре (18–24 °С) вне зависимости от типа используемых вакуумных пробирок с 3,2% трехзамещенным цитратом натрия (0,109 моль/л).

Необходимость диагностирования состояния свертывающей системы крови пациента возникает как в случаях заболеваний, обусловленных нарушениями самой системы гемостаза (коагулопатии), так и при лечении многих иных видов патологий (как наследственных, так и приобретенных). При этом качество результатов исследований показателей гемостаза самым существенным образом влияет на правильность постановки диагноза и эффективность проводимого лечения. В настоящей работе исследовалась стабильность результатов измерений базовых показателей гемостаза: протромбинового времени (ПВ, сек), активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ, сек) и концентрации фибриногена (ФГ, сек и г/л).

На результаты измерений показателей гемостаза значительное влияние оказывают факторы преаналитического этапа исследования [1–7]. К важнейшим из них относятся длительность и температура хранения проб крови до проведения лабораторного исследования, а также стабильность используемых реагентов. Эти факторы становятся особо значимыми, когда взятие проб крови у пациентов и выполнение лабораторных исследований осуществляется в разных учреждениях, находящихся иногда на значительном расстоянии друг от друга, а также в ситуациях, когда через некоторое время после проведения анализа крови возникает необходимость выполнения повторного или дополнительного исследования.

На стабильность показателей гемостаза влияют также способ взятия крови из вены и качество применяемых стабилизаторов. В настоящее время повсеместно принято производить взятие, хранить и транспортировать пробы плазмы крови для исследования гемостаза в специальных вакуумных пробирках с цитратом натрия [8–13].

Исследование воспроизводимости результатов скрининговых тестов гемостаза

Целью настоящей работы являлось исследование стабильной воспроизводимости результатов основных скрининговых тестов гемостаза после суточного хранения образцов плазмы крови человека при комнатной температуре.

В работе исследовали пробы крови 70 амбулаторных пациентов (32 мужчин и 38 женщин в возрасте от 26 до 65 лет), не получавших антитромботическую терапию по крайней мере за две недели до взятия проб крови.

Для взятия, транспортирования, хранения и анализа проб крови использовались вакуумные пробирки (UNIVAC и BD) с 3,2% трехзамещенным цитратом натрия (0,109 моль/л) и объемом взятой крови 2,7 мл.

У пациентов брали кровь в соответствии с протоколом CLSI H3-A6 «Процедуры для взятия диагностических образцов крови с помощью венепункции» [14]. Каждому пациенту выполняли один прокол локтевой вены и забирали кровь последовательно: сначала 4 мл для планового биохимического анализа, а затем по 2,7 мл в две пробирки для данного коагулологического исследования. Взятую кровь доставляли в лабораторию автотранспортом в изотермических контейнерах (в вертикальном положении) при комнатной температуре. Далее кровь центрифугировали в течение 10 минут при 2000 g, и пробы полученной бедной тромбоцитами плазмы (число тромбоцитов менее 10000/мкл) хранили (в тех же пробирках для взятия крови) при комнатной температуре (согласно ГОСТ Р 53079.4-2008). Показатели гемостаза определяли коагулологическими методами (используя реагенты НПО «РЕНАМ») на автоматическом анализаторе Sysmex CS 2100i через 2 и 24 часа после взятия крови. Исследование выполнено в отделе ОТК (отдел контроля качества) НПО РЕНАМ.

Статистический анализ

Сравниваемые результаты гемостатических тестов биоматериала распределены (по результатам проверки критерием Колмогорова – Смирнова) нормально, что позволило использовать двусторонний t-критерий Стьюдента для зависимых выборок. Прежде всего оценили возможное вли-

Таблица 1

Оценка воспроизводимости результатов измерений гемостатических показателей образцов крови, взятых в пробирки разных производителей, при последовательных повторных измерениях

Тип пробирок	ПВ, сек	АЧТВ, сек	ФГ, сек
UNIVAC	15,07 ± 0,24	36,10 ± 0,66	12,01 ± 0,45
UNIVAC	15,20 ± 0,24	36,31 ± 0,62	11,93 ± 0,48
BD Vacutainer	15,90 ± 0,26	37,21 ± 0,82	12,73 ± 0,64
BD Vacutainer	15,88 ± 0,27	37,10 ± 0,75	12,23 ± 0,51

Примечание: результаты двух серий измерений на одном типе пробирок и далее последовательно двух серий на другом типе пробирок представлены в виде: средняя арифметическая ± стандартная ошибка среднего. Различия между всеми четырьмя попарно сравниваемыми сериями измерений незначимы ($p > 0,70$). ПВ – протромбиновое время, АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, ФГ – фибриноген.

Таблица 2

Средние значения показателей гемостаза через 2 и 24 часа после взятия проб крови

Показатель, сек	М (SD) через 2 часа	М (SD) через 24 часа
ПВ	15,79 (1,05)*	15,77 (1,08)*
АЧТВ	37,27 (3,56)**	37,20 (3,59)**
ФГ	13,50 (2,07)***	13,55 (2,16)***

Примечание: *, **, *** – различия незначимы ($p > 0,80$); ПВ – протромбиновое время, АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, ФГ – фибриноген.

яние на результаты тестов гемостаза варибельности измерений, связанной с самой процедурой измерений и маркой используемых пробирок. После чего провели основной анализ по сравнению серий измерений коагулологических показателей через 2 и 24 часа после взятия проб крови. Для оценки возможного влияния на результаты измерений варибельности самой процедуры измерений, а также марки пробирок, были выполнены последовательно (без перерыва во времени) четыре серии измерений гемостатических показателей на одних и тех же 35 пробах крови (случайным образом выбранных из общего числа проб) последовательно: две серии измерений на одном и том же типе пробирок и далее две серии измерений на другом типе пробирок

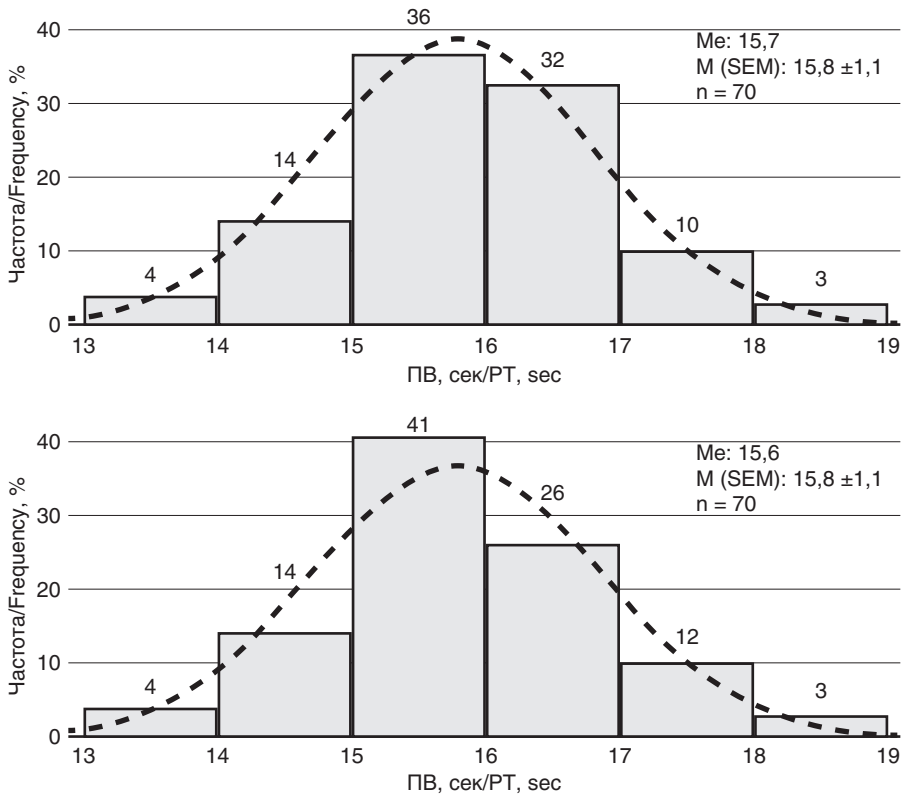


Рисунок. Сравнение распределений ПВ (сек) в двух повторных сериях измерений (на одних и тех же 70 образцах крови) через 2 и 24 часа от момента забора крови. Различие незначимо ($p = 0,916$)

(табл. 1). Попарное сравнение этих четырех серий измерений показало отсутствие значимого различия между всеми ними ($p > 0,70$). Полученные результаты свидетельствуют: 1) о стабильной воспроизводимости результатов последовательных повторных измерений (межсерийная вариабельность не влияла на результаты гемостатических тестов); 2) об отсутствии значимой зависимости результатов измерений гемостатических тестов от марки используемых пробирок. Используются (в таблицах и на рисунке) следующие обозначения: M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение, SEM – стандартная ошибка среднего, Me – медиана.

Сравнение серии результатов тестов через 2 и 24 часа после взятия проб крови показывает отсутствие значимого различия между ними (табл. 2). В данной таблице указаны

значения показателей гемостаза из образцов крови, взятых в пробирки UNIVAC (ООО «Эйлитон», Россия).

Отсутствие значимого различия результатов коагулологических тестов после суточного хранения проб крови проиллюстрировали на примере показателя ПВ (рисунок).

Проведенное исследование показало, что результаты тестов свертываемости крови стабильно воспроизводятся через как минимум одни сутки ее хранения в условиях комнатной температуры.

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о стабильной воспроизводимости результатов базовых тестов гемостаза (ПВ, АЧТВ и ФГ) через (по меньшей мере) 24 часа хранения образцов плазмы крови в различных вакуумных пробирках с 3,2% трехзамещенным цитратом натрия при комнатной температуре (18–24 °С).

Список использованной литературы

1. Magnette A., Chatelain M., Chatelain B. et al. Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories. *Thrombosis Journal*. 2016; 14 (1):1-14. DOI: 10.1186/s12959-016-0123-z.
2. Gosselin R.C. Review of coagulation preanalytical variables with update on the effect of direct oral anticoagulants. *Int J Lab Hematol*. 2021; 43 (Suppl 1):109-116. DOI: 10.1111/ijlh.13585.
3. Denessen E.J., Jeurissen M.L., Pereboom R.M. et al. Determining the maximal storage time of centrifuged citrated samples for performing add-on routine coagulation tests. *Thrombosis Research*. 2020; 196:54-62.
4. Toulon P., Metge S., Hangard M. et al. Impact of different storage times at room temperature of unspun citrated blood samples on routine coagulation tests results. Results of a bicenter study and review of the literature. *J Lab Hem*. 2017; 39:458-468.
5. Adcock Funk D.M., Lippi G., Favaloro E.J. Quality standards for sample processing, transportation, and storage in hemostasis testing. *Semin. Thromb. Haemost*. 2012; 38(6):576–585.
6. Heil W., Grunewald R., Amend M. et al. Influence of time and temperature on coagulation analytes in stored plasma. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 1998; 36(7):459-62. DOI: 10.1515/CCLM.1998.077.

7. Linskens E.A., Devreese K.M. Pre-analytical stability of coagulation parameters in plasma stored at room temperature. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2018; 40(3):292-303.
8. Гапонова Т.В., Хрущев С.О., Выборных Д.Э. и др. Доноры крови: социально-демографические и психологические характеристики (по данным исследования доноров ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России). *Гематология и трансфузиология*. 2018; 63(4):325-333. DOI: 10.25837/НАТ.2019.64.27.001.
9. Zürcher M., Sulze I., Barizzi G. et al Stability of coagulation assays performed in plasma from citrated whole blood transported at ambient temperature. *Thrombosis and Haemostasis*. 2008; 99(2):416-26. DOI: 10.1160/TH07-07-0448.
10. Rao L.V., Okorodudu A.O., Petersen J.R. et al. Stability of prothrombin time and activated partial thromboplastin time tests under different storage conditions. *Clinica Chimica Acta*. 2000; 300(1-2):13-21.
11. Zhao Y., Lv G. Influence of temperature and storage duration on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time and thrombin time, in citrate-anticoagulated whole blood specimens. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2013; 35:566-570.
12. Adcock D., Kressin D., Marlar R.A. The effect of time and temperature variables on routine coagulation tests. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*. 1998; 9(6):463-470.
13. Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Мелкумян А.Л. и др. Клинико-лабораторный контроль антикоагулянтной терапии. Зачем? Когда? Как? // *Справочник заведующего КДЛ*. 2019. № 8. С. 45–49.
14. Cho K.H., Kim J.S., Jeon M.S. et al. Basic principles of the validation for good laboratory practice institutes. *Toxicol Res*. 2009; 25(1):1-8. DOI: 10.5487/TR.2009.25.1.001.