

ОСОБЛИВОСТІ ПРЕАНАЛІТИЧНОГО ЕТАПУ ПРИ ПРОВЕДЕННІ КОАГУЛОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Срьоменко Р.Ф., Козар В.В., Должикова О.В.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Для дослідження системи гемостазу розроблені та отримали широке поширення високоточні прилади і надійні лабораторні методи, які дозволяють швидко і ефективно виявити порушення, що призводять до кровоточивості або тромбозів, однак їх відтворюваність і точність значимо знижуються при недотриманні правил та умов преаналітичного етапу. Взяття зразків крові, транспортування та їх підготовку для дослідження системи гемостазу слід розглядати як найважливіші етапи отримання коректних результатів, яким має бути приділено чимало уваги в будь-якій лабораторії, що виконує дослідження системи гемостазу.

Кров для дослідження гемостазу забирають вранці натщесерце після не менш 8 год після останнього прийому їжі. Важливо, щоб взяття венозної крові проводилося в спокійному стані, тому перед венепункцією пацієнту рекомендують посидіти протягом 20–30 хв. Для отримання надійних результатів при дослідженні тромбоцитарного гемостазу за день до здачі аналізу пацієнту слід уникати стресів, фізичних навантажень, зміни режиму дня і змін у харчуванні, прийому алкоголю. Особливо ретельно необхідно дотримуватися цих умов при дослідженні маркерів активації тромбоцитів. Лікаря необхідно знати про лікарські препарати, які призначені і вводяться пацієнтові, оскільки ряд медикаментів здатні порушити агрегацію тромбоцитів або спричинити зміну параметрів коагуляції. У таких ситуаціях часто доводиться враховувати лише антикоагулянтний або антитромбоцитарний ефект застосовуваних лікарських препаратів, оскільки виявити порушення гемостазу на тлі застосування антикоагулянтів або антиагрегантів неможливо.

У пацієнтів у реанімаційному відділенні не можна брати кров з підключичного катетера, оскільки це найбільш часта причина попадання гепарину в зразок крові. У пацієнтів у відділенні гемодіалізу не можна здійснювати забір крові з артеріовенозної фістули. Однак при деяких критичних станах взяття крові в пробірку або вакутайнер з кубітальної вени буває неможливим через зниження тиску. У подібних ситуаціях кров для дослідження допустимо взяти з підключичного катетера, але при цьому слід враховувати, що перелік виконуваних методик буде суттєво обмежений внаслідок можливої наявності гепарину в зразку.

Взяття зразка капілярної крові проводять у відповідності до стандарту DIN 58910-D. Чисте і сухе місце пучки пальця або вушної мочки пацієнта пунктирують стерильним скарифікатором. Прокол повинен бути досить глибоким. Неприпустимий тиск або стиснення. Необхідна кількість крові (10–50мкл) забирається в стерильний капіляр протягом 10 сек. Капілярна кров використовується лише для адаптованих коагулологічних методів.

Пункція вени повинна бути малотравматичною: для дослідження системи гемостазу необхідною умовою є запобігання потраплянню в пробу тканинного тромбопластину з місця венепункції. Час накладення джгута повинен бути не більше 1 хв. Стаз довший 3 хв. призводить до: вкорочення протромбінового часу (ПЧ), активованого часткового тромбопластового часу (АЧТЧ), тромбінового часу (ТЧ) на 10–15 %; збільшення приблизно на 10 % концентрації фібриногену, антитромбіну (АТ) III; збільшення приблизно на 20 % фактора VIII.

При заборі крові пацієнт не повинен стискати і розтискати пальці. Не рекомендується поплескувати долонею за місцем взяття крові з метою збільшення припливу крові до нього. У випадках, коли пошук вени, яка підходить для пункції займає більше часу, необхідно зняти джгут і накласти його знову.

Для дослідження показників гемостазу кров не повинна мати слідів гемолізу, згустків крові, ліпемії. Прокол шкіри з видимими слідами етилового спирту на ній може призводити до гемолізу отриманої крові.

Для більшості гемостазіологічних досліджень в якості антикоагулянту застосовують цитрат натрію, а саме 0,105-0,109 М розчин Na_3Cit (відповідно 3,2% – $\text{Na}_3\text{Cit} \times 2\text{H}_2\text{O}$ або 3,8% – $\text{Na}_3\text{Cit} \times 5,5\text{H}_2\text{O}$). Використання 0,129 М цитрату натрію в якості антикоагулянту призводить до значного подовження часу кальцій-залежних коагуляційних тестів (визначення протромбінового індексу і міжнародного нормалізованого відношення (МНВ), АЧТЧ, причому цей ефект посилюється при зберіганні проби.

При заборі крові необхідно чітко витримувати відповідні співвідношення між кількістю антикоагулянта і кров'ю. Не рекомендують тестувати проби при < 90% заповнення пробірки з цитратом натрію.

Кров береться в цитрат натрію в співвідношенні 1:9 (1 об'єм цитрату + 9 об'ємів крові). Неправильне співвідношення впливає на результати тесту (концентрація цитрату, розведення крові). Розведення більше 1:12 (додавання більшого об'єму крові) веде до активації згортання, що проявляється у вкороченні часу згортання. Додавання малої кількості крові веде до більшого розведення плазми і подовженню часу згортання за рахунок розведення всіх компонентів плазми і кальцію в стандартних реагентах.

Оскільки більшість факторів згортаючої системи міститься в плазмі, але не в еритроцитах, необхідна кількість антикоагулянту, яку необхідно взяти, залежить від показника гематокриту у пацієнта. Прийняте співвідношення розчину стабілізатора з кров'ю (1: 9) правильне лише при нормальному гематокритному показнику, у зв'язку з тим, що розчин цитрату залишається в плазмі і не проникає в клітини крові. При високих показниках гематокриту (більше 55 %), можливе «передозування» проби розчином цитрату натрію (особливо 3,8 % розчином), що в подальшому аналізі призведе до подовження значень протромбінового часу (ПЧ), АЧТЧ. При низькому (< 35 %) значенню гематокриту, навпаки, слід попередньо додати додаткову кількість цитрату в пробірку, підрахувавши його за спеціальною формулою. Однак скорегувати об'єм цитрату у вакуумних пробірках без порушення вакууму досить складно, і стандартні інструкції виробників вакуумних систем подібної можливості не передбачають. У зв'язку з цим, оскільки грубі зрушення гематокриту в діагностичній практиці зустрічаються нечасто, при їх наявності буває простіше взяти кров за допомогою голки не в вакуумну, а в звичайну скляну чи пластикову пробірку, попередньо додавши в неї цитрат натрію згідно з формулою.

Якщо для забору крові для гемостазіологічних досліджень застосовують не спеціальні вакуум-вмісні системи, а звичайні скляні пробірки, то приготований в умовах лабораторії робочий розчин цитрату натрію слід зберігати при температурі від +2 до +8 °С не більше 48 год. При недотриманні температурного режиму у такому розчині розвивається мікрофлора, внаслідок чого концентрація цитрату натрію зменшується і з'являються сторонні домішки, що володіють потенційною здатністю стимулювати тромбоцити і активувати коагуляційні реакції.

Оптимальними умовами зберігання пробірок із зразками крові для дослідження системи гемостазу є температура +20+24°С. Кров не повинна охолоджуватися, її категорично забороняється зберігати в холодильнику при +4+8°С, оскільки це призведе до скорочення часу згортання крові. Дослідження коагуляційних властивостей та факторів згортання крові повинно бути проведено протягом 2 годин з моменту взяття крові.