

КОАГУЛОЛОГИЯ

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Петрова О.В.^{1,2}, Дымова О.В.³, Твердохлебова Д.К.¹, Смельцова Е.В.¹, Панова Е.В.¹, Никулина Д.М.²

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ СИСТЕМ ДЛЯ ВЗЯТИЯ КРОВИ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

¹ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» Минздрава РФ, 414011, Астрахань, Россия;

²ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 414000, Астрахань, Россия;

³ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» Министерства науки и высшего образования РФ, 119991, Москва, Россия

Цель – провести сравнительный анализ влияния систем для взятия крови на результаты исследования показателей системы гемостаза. В исследовании принимали участие здоровые испытуемые старше 18 лет женского пола (n=30). Критерий включения: практически здоровые лица. Критерий исключения: прием нестероидных противовоспалительных препаратов, оральных контрацептивов.

Забор крови осуществляли в следующие системы: 1 система – пробирки вакуумные Vacuette Premium, 2 система – Improvacuter, 3 система – BD Vacutainer® Plus.

До и после центрифугирования была произведена визуальная оценка качества биологического материала (плазмы крови) на наличие сгустков, гемолиза, недостаточного наполнения пробирки. В каждом образце определили протромбиновое время (ПВ, сек), активированное частичное тромбoplastиновое время (АЧТВ, сек), фибриноген (Ф, г/л) клоттинговым методом на автоматическом коагулометре «Sta Compact» («Diagnostica Stago», Франция). Результаты лабораторных исследований обработали методом параметрической и непараметрической статистики с помощью программы Statistica 12.0. На преаналитическом лабораторном этапе не выявлено различий при использовании систем для взятия крови: в образцах не выявлено сгустков и гемолиза, уровень наполнения систем был достаточный.

При сравнительном анализе систем для взятия крови Vacuette Premium, Improvacuter, BD Vacutainer® Plus выявлены различия при определении ПВ у доноров между системами Vacuette Premium и Improvacuter, между Improvacuter и BD Vacutainer® Plus; при определении АЧТВ между системами Vacuette Premium и Improvacuter. Полученные нами результаты подтверждают данные, имеющиеся в литературе о влиянии систем для взятия крови на показатели гемостаза, что позволяет сделать нам правильный выбор при приобретении систем для взятия крови.

Ключевые слова: преаналитический этап; системы для взятия крови; показатели; кровь; система гемостаза.

Для цитирования: Петрова О.В., Дымова О.В., Твердохлебова Д.К., Смельцова Е.В., Панова Е.В., Никулина Д.М. Сравнительный анализ влияния систем для взятия крови на результаты исследования показателей системы гемостаза.

Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (10): 607-610. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-10-607-610>

Petrova O.V.^{1,2}, Dymova O.V.³, Tverdokhlebova D.K.¹, Smelsova E.V.¹, Panova E.V.¹, Nikulina D.M.²

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE IMPACT OF BLOOD COLLECTION SYSTEMS ON THE RESULTS OF THE STUDY OF INDICATORS HEMOSTASIS SYSTEM

¹Federal state budgetary establishment «Federal center cardiovascular surgery» (Astrakhan) Russia, Russian, 414011, Astrakhan, Russia;

²Astrakhan State Medical University, Astrakhan, 414000, Russia;

³Federal state budgetary scientific institution «Petrovsky national research center of surgery», Moscow, 119991, Russia

Comparative analysis of the impact of blood collection systems on the results of routine coagulation tests. The aim of this study was to conduct comparative analysis of the effects of blood collection systems on the results of routine coagulation tests. The study involved practically healthy women over 18 years of age female (n=30). Inclusion criteria: practically healthy individuals. Exclusion criteria: taking non-steroidal anti-inflammatory drugs, or oral contraceptives. Blood collection was carried out in the following systems: 1 system- Vacuette Premium, 2 system- Improvacuter, 3 system- BD Vacutainer® Plus.

Before and after centrifugation, visual assessment of tubes was performed. No signs for the presence of clots, hemolysis, or insufficient filling was observed. In each sample we measured prothrombin time (PV, sec), activated partial thromboplastin time (APTT, sec), and fibrinogen (F, g/l) by clotting method on the automatic coagulometer «Sta Compact» («Diagnostica Stago», France). The results of laboratory analyses were processed using parametric and non – parametric statistics using The Statistica 12.0 software. At the preanalytical laboratory stage, there were no differences when using systems for blood sampling: the clots and hemolysis were not detected in the samples, the level of filling of the systems was sufficient. Comparative analysis revealed small, though statistically significant, differences for: PT when comparing Improvacuter with Vacuette Premium or BD Vacutainer®; APPT when comparing Improvacuter with Vacuette Premium. No differences were observed for Fg levels. Our results support the data available in the literature on the effects of blood-taking systems on hemostasis, which should be taken into account when purchasing blood collection systems.

Key words: pre-analytical stage; blood collection system; indicators; blood; hemostasis system, coagulation tests.

For citation: Petrova O.V., Dymova O.V., Tverdokhlebova D.K., Smeltsova E.V., Panova E.V., Nikulina D.M. Comparative analysis of the impact of blood collection systems on the results of the study of indicators hemostasis system. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (10): 607-610 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-10-607-610>

For correspondence: Petrova O.V., Cand. Sci. (Med.), Head of Laboratory, e-mail: students_asma@mail.ru

Information about authors:

Петрова О.В. – <http://orcid.org/0000-0003-3544-2266>;
Дымова О.В. – <http://orcid.org/0000-0002-3624-4774>;
Твердохлебова Д.К. – <http://orcid.org/0000-0001-6754-6348>;
Смельцова Е.В. – <http://orcid.org/0000-0002-0359-8664>;
Панова Е.В. – <http://orcid.org/0000-0001-5357-7311>.

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Received 05.06.2020
Accepted 08.06.2020

В настоящее время стандартизация преаналитического этапа (взятия биологического материала) обеспечена за счет внедрения в клиническую практику систем для взятия крови.

На отечественном рынке представлены отечественные и зарубежные системы для взятия крови, в разном ценовом диапазоне и с разными техническими характеристиками.

В литературе имеются единичные данные влияния систем для взятия крови на результаты показателей системы гемостаза [2,5].

Учитывая тот факт, что особые требования предъявляются к взятию крови для проведения исследований показателей системы гемостаза, мы перед собой поставили следующую цель.

Цель исследования – провести сравнительный анализ влияния систем для взятия крови на результаты исследования показателей системы гемостаза.

Материал и методы. Исследования проводили в рамках профилактического медицинского осмотра в ФГБУ «Федеральном центре сердечно-сосудистой хирургии (г. Астрахань)». Все участники исследования дали свое информированное согласие.

В исследовании принимали участие здоровые испытуемые старше 18 лет женского пола ($n=30$).

Критерий включения: практически здоровые лица. Критерий исключения: прием нестероидных противовоспалительных препаратов, оральных контрацептивов.

Кровь для исследования собирали путем пункции кубитальной вены после наложения жгута (не более 1 мин) в положении пациента лежа с помощью систем для забора крови.

Забор крови осуществляли в следующие системы:

1) система – пробирки вакуумные Vacuette Premium, с двойной стенкой, (производитель Greiner Bio-One GmbH, Австрия), объемом 1,8 мл.

2) система – вакуумные пробирки Improvacuter для коагулологии, (производитель Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Ltd, Китай), объемом 1,8 мл.

3) система – пробирки вакуумные BD Vacutainer® Plus для коагулологических исследований (Becton Dickinson and Company, США), объемом 1,8 мл.

Все системы для забора крови (пробирки) содержали цитрат натрия концентрацией 3,2%. После взятия крови системы перемешивали 3–4 раза.

Образцы крови доставляли в лабораторию в течение 15–20 мин после венепункции. В лаборатории прово-

дили пробоподготовку – центрифугирование пробирок с кровью в течение 15 мин при относительной центрифужной силе 2500 G.

После центрифугирования была произведена визуальная оценка качества биологического материала (плазмы крови) на наличия сгустков, гемолиза, недостаточного наполнения пробирки.

В каждом образце, клоттинговым методом, определяли протромбиновое время (ПВ, сек), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ, с), фибриноген (Ф, г/л) на автоматическом коагулометре «Sta Compact» («Diagnostica Stago», Франция) согласно инструкциям производителя.

При исследовании ПВ и Ф использовали прекалиброванные наборы реактивов «NeoplastinR» и «Fibrinogen», АЧТВ – «Cephascreen» фирмы «Diagnostica Stago» (Франция).

Внутрилабораторный контроль качества осуществляли с помощью аттестованного контрольного материала «Lyphochek Coagulation Control» (фирмы «Bio-Rad», США), коэффициент аналитической вариации корреляции (CV_a) для ПВ составил от 3,09% и до 4,09%, CV_a для АЧТВ – от 2,02% до 2,62%, CV_a для Ф – от 3,00% и до 3,23%.

Результаты лабораторных исследований обработали методами параметрической и непараметрической статистики (в зависимости от результатов проверки распределений на соответствие нормальному) с помощью программы Statistica 12.0. Вычисляли среднеарифметические значения (M), стандартные отклонения (s), медианы, 25-й и 75-й квартили, минимальные и максимальные значения.

Для определения смещений (отклонений) средних значений рассчитали смещение (отклонение) $V\%$, по формуле: $V = (X - U3)/U3 * 100\%$,

где: V – относительное смещение, X – среднее значение измерений контрольного образца, $U3$ – установленное значение.

Достоверность отличий средних величин оценивали с помощью параметрического t -критерия Стьюдента для связанных совокупностей и непараметрического критерия Вилкоксона (в зависимости от результатов предшествующей проверки распределений на соответствие нормальному) при уровне вероятности более 95% ($p < 0,05$) с учетом поправки на множественную проверку гипотез (поправки Бонферрони). Для уменьшения ложноположительных результатов были отклонены

те гипотезы, для которых p -value по критерию p_i были меньше, чем α/m ($p_i < 0,0167$).

Результаты. Сравнительный анализ систем для взятия крови состоял из 2 этапов.

На первом этапе проводили сравнительный анализ качества биологического материала до и после центрифугирования в исследуемых образцах, собранных в системы для взятия крови трех производителей. Критериями качества биологического материала являлись – наличие сгустка, наличие гемолиза, недостаточный объем пробы.

Сравнительный анализ качества биологического материала до и после центрифугирования (табл. 1) не выявил в образцах сгустков, гемолиза, и отклонений в наполнении пробирок при использовании трех коммерческих систем для взятия крови разных производителей.

На втором этапе анализа в образцах, собранных в разные системы для взятия крови определили ПВ, АЧТВ и Ф.

Результаты определения показателей системы гемостаза (ПВ, АЧТВ, Ф) у здоровых добровольцев были в

пределах референсных значений. Описательная статистика для исследованных показателей системы гемостаза представлены в табл. 2.

При множественном сравнительном анализе результатов ПВ, полученных из трех систем, получены статистически достоверные различия между системой № 1 и системой № 2 ($p=0,000006$), а также между системой № 2 и системой № 3 ($p=0,000016$), хотя клиническая значимость выявленных различий не очевидна (см. табл. 2). Значения ПВ в плазме из систем № 1 и № 3 достоверно не различались ($p=0,101$).

Результаты определения ПВ традиционно выдаются в виде производных расчетных величин. При множественном сравнительном анализе результатов активности протромбина по Квику, полученных из трех систем, получены статистически достоверные различия только между системой № 2 и системой № 3 ($p=0,00022$). Выявленные различия определения МНО также были статистически достоверны между системами № 1 и № 3 ($p=0,000000$), а также между системами № 2 и № 3 ($p=0,000447$).

При множественном сравнительном анализе результатов АЧТВ, полученных из трех систем, получены статистически достоверные различия только между системами № 1 и № 3 ($p=0,005107$).

Концентрация фибриногена, измеренная в плазме из трех анализируемых систем, достоверно не различалась (см. табл. 2).

Также для определения значимых различий между исследуемыми показателями использовали значения В (смещения), значения В (%) (табл. 3).

Анализ смещения между изучаемыми показателями производили с помощью сравнения полученных значений В (%) с международными значениями смещения (В, %), представленными на сайте www.westgard.com [6].

Таблица 1

Сравнительный анализ качества биологического материала до и после центрифугирования

№	Критерий	Системы для забора крови					
		1 система (n=30)		2 система (n=30)		3 система (n=30)	
		n	%	n	%	n	%
1	Наличие сгустков	0	0	0	0	0	0
2	Наличие гемолиза	0	0	0	0	0	0
3	Недостаточное наполнение	0	0	0	0	0	0

Таблица 2

Измеряемые и расчетные показатели системы гемостаза

Лабораторный показатель, единица измерения	Системы для взятия крови			Референсный интервал
	1 система (n=30)	2 система (n=30)	3 система (n=30)	
ПВ, сек	M±s	14,10±0,71	14,38±0,78	14,18±0,74
	Медиана	13,95	14,25	14,10
	25-й – 75-й квартиль	13,63-14,48	13,85-14,88	13,70-14,50
	Минимум-максимум	12,70-16,10	12,8-16,4	12,6-16,2
Активность протромбина по Квику, %	M±s	90,30±8,35	88,57±7,45	90,41-6,73
	Медиана	92,00	89,50	91,00
	25-й – 75-й квартиль	85,50-96,75	83,25-94,25	87,00-96,00
	Минимум-максимум	65,00-100,00	71,00-100,00	73,00-100,00
МНО	M±s	1,05±0,04	1,07±0,05	1,06±0,05
	Медиана	1,04	1,06	1,05
	25-й – 75-й квартиль	1,01-1,08	1,03-1,10	1,02-1,08
	Минимум-максимум	1,00-1,18	1,00-1,20	1,00-1,19
АЧТВ, сек	M±s	30,09±2,18	29,40±2,63	29,91±1,98
	Медиана	29,50	28,80	29,70
	25-й – 75-й квартиль	28,70-31,38	27,63-31,55	28,30-31,60
	Минимум-максимум	26,40-35,10	25,60-34,10	27,00-34,50
Фибриноген, г/л	M±s	3,24±0,50	3,35±0,45	3,24±0,53
	Медиана	3,14	3,37	3,21
	25-й – 75-й квартиль	2,90-3,71	3,04-3,79	2,95-3,75
	Минимум-максимум	2,50-4,00	2,50-4,00	2,09-4,00

Значения смещения (В, %) показателей системы гемостаза при использовании разных систем для взятия крови

№	Показатели	CVa	В,% между 1 и 2 системами	В,% между 2 и 3 системами	В,% между 1 и 3 системами	Критерии качества (http://www.westgard.com)	
						CVg	В,%
1	ПВ, с	4,09	-1,95*	1,99*	0	6,8	2,0
2	АЧТВ, с	2,62	2,35*,**	-1,71	0,6	8,6	2,3
3	Ф, г/л	3,23	-3,28	3,39	0	15,8	4,8

Примечание. * – достоверность различий ($p < 0,001$), ** – значимые изменения по сравнению с международными значениями, www.westgard.com [6].

Достоверные различия выявлены (см. табл.3):

1. для ПВ: при сравнении 1-й системы со 2-й системой; 2-й системы с 3-й системой (несмотря на то, что значения смещения были меньше международных);

2. для АЧТВ при сравнении 1-й системы со 2-й системой.

Не выявлено достоверных различий при определении фибриногена при использовании разных систем для взятия крови.

Обсуждение. Показатели системы гемостаза имеют важное значение для диагностики нарушений в свёртывающей системе гемостаза, оценки эффективности и безопасности использования антитромботической терапии [1,3,4].

В настоящее время системам для взятия крови, как источникам ошибок на преаналитическом этапе, не уделяется должного внимания. Тем не менее, Б.Г. Городецкий и соавт. [2] при валидации трех систем для взятия крови (Vacuette Premium, Lind-Vac®, Univac®) выявил, что при использовании систем Lind-Vac® и Univac® отмечаются статистически значимые изменения в ПВ, АЧТВ.

G.Lima-Oliveira и соавт. [5] при валидации пяти систем для взятия крови обнаружил достоверные различия при определении ПВ и АЧТВ.

В связи с этим, мы провели сравнительный анализ систем для взятия крови при проведении исследований показателей гемостаза.

На преаналитическом, лабораторном этапе не выявлено различий при использовании систем для взятия крови трех производителей: до и после центрифугирования в образцах не выявлено сгустков и гемолиза, уровень наполнения систем был достаточным (см. табл. 1).

На аналитическом этапе были обнаружены достоверные различия при определении ПВ и АЧТВ (см. табл. 3):

1) при определении ПВ между 1-й и 2-й системами, между 2-й и 3-й системами;

2) при определении АЧТВ между 1-й и 2-й системами.

Полученные нами результаты сравнительного анализа подтверждают данные, имеющиеся в литературе [2,5,7] о влиянии систем для взятия крови на показатели системы гемостаза.

Таким образом, при сравнительном анализе систем для взятия крови Vacuette Premium, Improvacuter, BD Vacutainer® Plus выявлены различия при определении ПВ у доноров между системами Vacuette Premium и Improvacuter, между Improvacuter и BD Vacutainer® Plus; при определении АЧТВ между системами Vacuette Premium и Improvacuter. Проведенный нами сравнитель-

ный анализ систем для взятия крови на коагулологические исследования выявил влияние систем на показатели свертывающей системы, что позволило нам сделать правильный выбор систем для взятия крови и обеспечить качество лабораторных исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 5–7 см. REFERENCES)

1. Вавилова Т.В. Гемостазиология в клинической практике (пособие для врачей) СПб.: СПбГМУ; 2005.
2. Городецкий Б.Г., Станкевич Л.И. Сравнительная оценка качества вакуумных систем для взятия крови при проведении коагулологических клинико-диагностических исследований. *Полликлиника*. 2018; 4-1: 24-6.
3. Долгов В.В., Свирин П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. М. – Тверь: ООО «Издательство» Триада»; 2005.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. СПб.: Формат; 2006.

REFERENCES

1. Vavilova T.V. Hemostasiology in Clinical Practice (Physician Manual) [Gemostaziologiya v klinicheskoy praktike (posobie dlya vrachej)]. St. Petersburg: SPbGMU im. Akad. I.P. Pavlova; 2005. (in Russian)
2. Gorodetskiy B.G., Stankevich L.I. Comparative assessment of the quality of vacuum systems for blood collection during coagulological clinical diagnostic studies. *Poliklinika*. 2018; 4-1: 24-6. (in Russian)
3. Dolgov V.V., Svirin P.V. Laboratory diagnosis of hemostasis disorders. [Laboratornaya diagnostika narushenij gemostaza]. Moscow-Tver': Triada; 2005. (in Russian)
4. Momot A.P. Hemostasis pathology. Principles and algorithms clinic of laboratory diagnostics [Patologija gemostaza. Printsipy i algoritmy kliniko-laboratornoy diagnostiki]. St.Petersburg: FormaT; 2006. (in Russian)
5. Lima-Oliveira G., Lippi G., Salvagno G.L., Montagnana M., Picheth G., Guidi G.C. Sodium citrate vacuum tubes validation: preventing preanalytical variability in routine coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2013; 24 (03): 252-5.
6. Westgard J. Biological Variation Database Specifications <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>. (accessed 1 August 2012).
7. CLSI GP -34A: Validation and Verification of tubes for Venous and capillary blood Specimen collection; Approved Guideline. Vol. 30 (25). CLSI document GP-34A. Wayne, USA: Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2010.

Поступила 05.06.20
Принята к печати 08.06.20