

# ОРГАНИЗАЦИЯ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА ПРИ ЦЕНТРАЛИЗАЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Доктор медицинских наук А. А. Кишкун, доктор медицинских наук, профессор А. Ж. Гильманов,  
доктор медицинских наук, профессор Т. И. Долгих, Д. А. Грищенко, Т. Г. Скороходова

Продолжение. Начало читайте в номере 2, 2014 г.  
«Современной лабораторной диагностики»  
Источник: [www.labmedicina.ru](http://www.labmedicina.ru)

## 7. Приспособления, используемые для взятия проб крови

### 7.1. Общие положения

7.1.1. Для взятия проб крови на лабораторные исследования предпочтительно использовать вакуумные системы. Использование вакуумных систем для взятия проб крови на лабораторные исследования регламентировано целым рядом руководящих документов:

- Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53079.4 – 2008. «Технологии медицинские лабораторные. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа». Введен в действие с 01.01.2010 года.

- «Правила и методы исследований и правила отбора образцов донорской крови, необходимые для применения и исполнения технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии», утверждены постановлением Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2010 г. № 1230.

- Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 6710 – 2009. «Контейнеры для сбора образцов венозной крови одноразовые». Утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 3 июля 2009 г. № 232-ст.

### 7.2. Общие характеристики вакуумных систем для взятия проб крови

7.2.1. Вакуумная система для взятия крови состоит из трех основных элементов, соединяющихся между собой в процессе взятия крови (рис. 7):

- стерильной одноразовой пробирки с крышкой и дозированным содержанием вакуума;
- стерильной одноразовой двусторонней иглы с визуальной камерой (или без камеры), закрытой с обеих сторон защитными колпачками;
- одно- или многоразового иглодержателя.

7.2.2. Под действием вакуума кровь втягивается через иглу напрямую из вены в пробирку.

7.2.3. В течение 2-3 суток перед использованием вакуумные системы для взятия крови должны храниться при комнатной температуре.

7.2.4. Оптимальной для хранения вакуумных систем является температура +4 – +25°C.

7.2.5. При хранении вакуумных систем избегайте воздействия прямого солнечного света, особенно при высоких температурах (выше +25°C). Избегайте складирования вблизи отопительных приборов.

7.2.6. При транспортировке избегайте температур ниже -15°C и выше +40°C. При этом следует отметить, что краткосрочная транспортировка пробирок при температурах от -30°C до +4°C не оказывает какого-либо существенного воздействия на функциональные свойства продукции.

7.2.7. Если пробирки хранились ниже 0°C, то перед использованием их необходимо выдержать при комнатной температуре в течение как минимум 48 часов.

7.2.8. При длительном хранении при температурах +40 – +50°C может произойти деформация пробирок. Следует иметь в виду, что большие перепады температур могут снизить эффективность пробирок за счет потери вакуума и спровоцировать неверные результаты анализов.

### 7.3. Общие характеристики вакуумных пробирок

Вакуумные пробирки производятся из пластика и стекла. Пластиковые пробирки не бьются, поэтому предпочтительнее для взятия проб крови при централизации лабораторных исследований. В пластиковых пробирках удобнее транспортировать образцы и их легче утилизировать. Недостатком пластиковых пробирок является то, что при длительном хранении некоторые жидкие наполнители в них могут испаряться, поэтому в таких случаях необходимо использовать только стеклянные пробирки.

Все вакуумные пробирки стерильные, предназначены для одноразового использования, выпускаются разных объемов и размеров от 1,8 до 10 мл. Объем забираемой пробы обеспечивается точно дозированным вакуумом, под действием которого кровь поступает в пробирку в процессе венопункции. В пробирках используются различные химические наполнители для проведения разных видов анализов. В качестве наполнителей в вакуумных пробирках используются активаторы свертывания (тромбин, кремнезем),

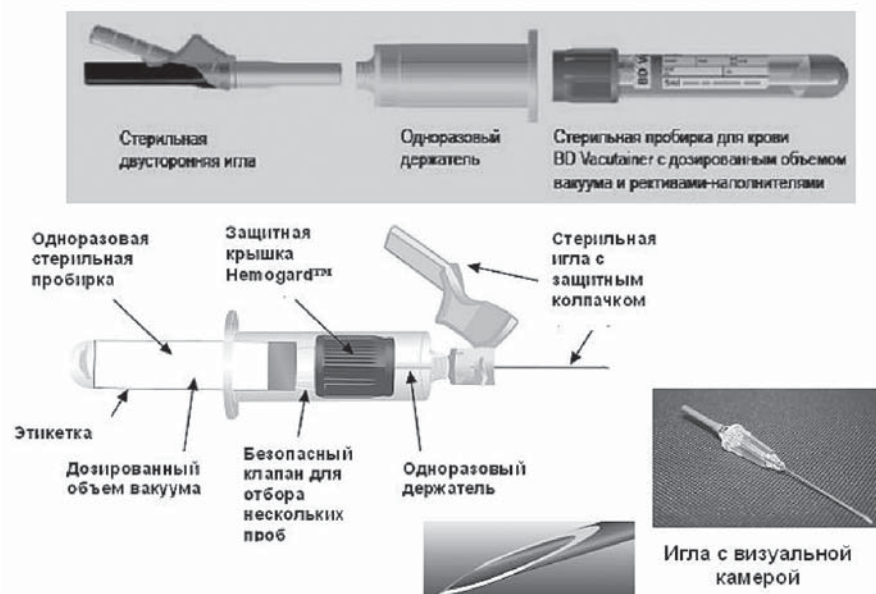


Рис. 7. Вакуумная система для взятия крови.

Т а б л и ц а 1. Выбор кодированных цветом вакутейнеров с антикоагулянтом

Цвет головки пробирки	Добавка	Применение
Красный/белый	Ничего не добавлено	Для получения сыворотки
Желтый	Содержит гель	Для получения сыворотки, разделяет форменные элементы крови и сыворотку
Зеленый/оранжевый	Гепарин	Для получения плазмы и форменных элементов крови
Сиреневый/красный	ЭДТА	Для получения цельной крови (связывается кальций)
Черный/розовато-лиловый	3,13% цитрат натрия	Для определения СОЭ по Вестергрену
Бледно-голубой/зеленый	3,13 % забуференный цитрат натрия	Для исследования системы гемостаза

антикоагулянты (ЭДТА, цитрат натрия, гепарин и т.д.), разделительные гели и др.

Верхний колпачок вакуумной пробирки закодирован цветом, который говорит о том, какой специфический антикоагулянт имеется в вакутейнере, или вакутейнер специально предназначен для взятия крови на определенные параметры. В табл. 1 приведен список антикоагулянтов и цветная кодировка вакутейнеров для наиболее распространенных видов лабораторных исследований.

### 7.3.1. Вакуумные пробирки для гематологических исследований

В качестве антикоагулянта в вакуумных пробирках для гематологических исследований цельной крови используется калиевая соль ЭДТА. В вакуумных пробирках антикоагулянт находится в виде порошка К2 ЭДТА или раствора К3 ЭДТА, концентрация которого достигает 1,8 мг/мл в полностью заполненных кровью пробирках.

Порошок К2 ЭДТА наносится распылением на внутреннюю поверхность пластиковых пробирок. К3 ЭДТА добавляется в стеклянные или пластиковые пробирки в виде 7,5% раствора, если объем пробы <3 мл (2,2% разбавление пробы), или в виде 15% раствора, если объем пробы > 3 мл (1,1 % разбавление пробы).

Для обеспечения правильного соотношения крови/антикоагулянт пробирка с ЭДТА должна заполняться точно до указанного объема (+10% от указанного на этикетке). Недостаток ЭДТА в пробе приводит к ее коагуляции, а избыточная концентрация ведет к сморщиванию клеток крови и искажению таких клинических показателей, как гематокрит, размер клеток и т.д.

При централизации гематологических исследований предпочтительно использовать вакуумные пробирки с К2 ЭДТА. Сразу после взятия крови в вакуумную пробирку с ЭДТА ее необходимо тщательно перемешать, переворачивая 8–10 раз. Недостаточное перемешивание также может привести к агрегации тромбоцитов, образованию микросгустков или коагуляции.

### 7.3.2. Вакуумные пробирки для измерения СОЭ

Для измерения СОЭ используются стерильные стеклянные вакуумные пробирки 120 мм длиной и диаметром 10,25 мм, с черной или розовато-лиловой крышкой. Наполнитель – раствор цитрата натрия 1,25 мл, концентрация 0,105 моль/л. При полном заполнении пробирки кровью (5,2 мл) достигается соотношение кровь: антикоагулянт, равное 4:1. Измерение СОЭ проводится в закрытой первичной вакуумной пробирке, то есть пробу не нужно переливать и дополнительно разбавлять. В полностью заполненной пробирке высота пробы составляет 100 мм.

### 7.3.3. Вакуумные пробирки для получения сыворотки

Сыворотка крови – наиболее часто используемый материал в КДЛ. Для получения сыворотки кровь должна полностью свернуться. Полное свертывание крови у пациентов, не принимающих антикоагулянты, происходит в среднем в течение 1 часа. Дальнейшее уплотнение сгустка происходит при центрифугировании. Для получения качественной пробы важно выдержать полное время свертывания крови. Если же кровь свернулась не полностью, то оставшийся после центрифугирования фибрин может изменять оптическую плотность пробы, а также засорять зонды анализаторов. Для ускорения процесса коагуляции используются активаторы свертывания – кремнезем и тромбин. В стеклянных пробирках функцию активатора свертывания выполняет непосредственно сама стеклянная стенка пробирки, так как в состав стекла входит кремний, ускоряющий процесс коагуляции. В пластиковые пробирки добавляются активаторы свертывания: кремнезем и/или тромбин. Внутренние стенки пробирок, как правило, покрыты силиконом для предотвращения адгезии клеток крови к поверхности стенок.

Микронизированный кремнезем – активатор свертывания, действующий на тромбоцитарное звено и плазменный гемостаз. Активатор свертывания используется в сывороточных пластиковых

пробирках с гелем и без геля. Кремнезем – порошок, распыленный на внутренние стенки пробирки, который визуально определяется в виде мутного напыления внутри пробирки. Частицы кремнезема нерастворимы. Они наносятся на поверхность пробирки в виде спрея водного раствора с поверхностно-активным веществом (ПАВ). ПАВ улучшает дисперсию частиц кремнезема, а также способствует снижению адгезии клеток на стенки пробирки. Пробирки с активатором свертывания кремнеземом требуют обязательного перемешивания (5–6 раз). Перемешивание уменьшает время свертывания и усиливает стягивание сгустка и, следовательно, увеличивает объем получаемой сыворотки. Перемешивание также уменьшает концентрацию ПАВ и кремнезема в сыворотке (они остаются внутри сгустка).

Для получения сыворотки используются вакуумные пробирки без геля (имеют красно/белую кодировку крышек) и гелем (имеют желтую кодировку крышек).

### 7.3.3.1. Вакуумные пробирки для получения сыворотки без геля

Вакуумные пробирки для получения сыворотки имеют красно/белую кодировку крышек различаются и бывают двух видов – стеклянные и пластиковые. Кремнезем добавляется только в пластиковые пробирки, стеклянные вообще не содержат наполнителя. После взятия пробы крови в пластиковые пробирки, ее следует перемешать путем переворачивания 5–6 раз для лучшего контакта с активатором свертывания. Прежде чем центрифугировать пробирки с сывороткой, необходимо дождаться полного свертывания крови. Минимальное время полного свертывания в пробирках этого типа – 60 минут. Условия центрифугирования: 1300 g в течение 10 минут.

### 7.3.3.2. Вакуумные пробирки с гелем для получения и отделения сыворотки

Вакуумные пробирки с гелем производятся только из пластика, и их можно отличить по желтой крышке. С целью лучшего отделения сгустка крови от сыворотки в пробирки добавлен гель – специальный материал, предназначенный для образования стойкого барьера между клеточными компонентами крови и сывороткой во время центрифугирования). Гель специально расположен в пробирке таким образом (под наклоном), чтобы во время центрифугирования облегчалось его механическое движение и отделение сгустка крови от сыворотки. Специфический удельный вес геля подобран таким образом (между плотностью форменных элементов крови и плотностью сыворотки), что при центрифугировании гель «всплывает» над эритроцитами и располагается между форменными элементами крови и сывороткой. Гель твердеет, и образуется барьер между форменными элементами крови и сывороткой. Устойчивый барьер образуется через 5 минут после окончания центрифугирования пробы. В пробирку с гелем добавлен кремнезем в количестве, обеспечивающем полное

свертывание крови в течение 30 мин. После взятия пробы крови в вакуумные пробирки с гелем, ее следует перемешать путем переворачивания 5–6 раз. Условия центрифугирования: 1500–2000 g в течение 10 мин. пробирки с гелем нельзя центрифугировать повторно, во избежание гемолиза пробы. При центрифугировании вакутейнеров с гелем нельзя пользоваться центрифугами с угловыми роторами, так как часть эритроцитов может попасть в сыворотку.

Преимущества вакуумных пробирок с гелем в отношении повышения эффективности выполнения анализов:

- сокращается время проведения анализа (нет необходимости ждать 1 час для завершения образования сгустка);
- «выход» сыворотки при центрифугировании больше (особенно важно это в педиатрии);
- центрифугировать надо только один раз;
- после центрифугирования пробу можно спокойно транспортировать без отделения от форменных элементов крови;
- возможно проведение анализа в первичной пробирке;
- можно переливать сыворотку в другие пробирки без применения пипетки;
- пробирки можно замораживать до -20°C.

Преимущества вакуумных пробирок с гелем в отношении повышения стабильности аналитов и чистоты образца:

- снижается вероятность гемолиза при центрифугировании;
- снижается вероятность присутствия лабильного фибрина в сыворотке;
- увеличивается срок хранения образца;
- повышается стабильность аналитов (ферментов, электролитов, гормонов и др.) с 2 часов до 3 и более дней; например, стабильность АСТ, ЛДГ и калия сохраняется в течение 6 суток при температуре 4°C;
- возможно использование сыворотки для специальных анализов, особенно для исследования гормонов, таких как эстрадиол и прогестерон;
- возможно проведение лекарственного мониторинга в отношении целого ряда фармакологических препаратов;
- отсутствие воздействия на пробу факторов окружающей среды (микроорганизмы, окисление и т.д.);
- более точное соответствие полученных *in vitro* результатов исследования состоянию внутренней среды организма пациента (состоянию *in vivo*).

В силу приведенных преимуществ, использование вакуумных пробирок с гелем приводит к значительному снижению числа ошибок на преаналитическом этапе, поэтому их предпочтительно использовать при централизации лабораторных исследований.

#### 7.3.3.3. Вакуумные пробирки для получения сыворотки с тромбином

Тромбин является природным активатором свертывания и значительно сокращает время

образования сгустка до 3–5 минут. Тромбин используется в пробирках с оранжевой крышечкой и может применяться для проведения всех исследований сыворотки, но чаще всего используется для экспресс-анализов. В пробирках с тромбином получается более очищенная сыворотка, чем в обычных пробирках. Производятся стеклянные пробирки, в которых содержится только тромбин, и пластиковые пробирки, в которых используется комплексный наполнитель – тромбин с кремнеземом. Также производятся пробирки с тромбином и гелем, время свертывания крови в которых 3–5 минут. После заполнения пробирки с тромбином кровью, ее следует обязательно перемешать путем переворачивания 5–6 раз. Полное свертывание крови происходит за 5 минут. Условия центрифугирования: пробирки без геля 1300 g в течение 10 минут, пробирки с гелем 1300–1500 g в течение 10 минут.

Пробирки с гелем нельзя повторно центрифугировать. При использовании пробирок с тромбином повышается качество пробы и снижается время, затрачиваемое на проведение теста в лаборатории. Эти пробирки являются идеальным решением для пациентов, находящихся на гемодиализе и получающих терапию гепарином.

#### 7.3.4. Вакуумные пробирки для получения плазмы

В практике КДЛ для получения плазмы используют вакуумные пробирки с гепарином (наиболее часто для исследования биохимических показателей и показателей клеточного иммунитета) и с жидким трехзамещенным цитратом натрия (для исследования показателей гемостаза).

Основное действие гепарина – блокирование активности тромбина и, следовательно, торможение перехода растворимого фибриногена в нерастворимый фибрин. Гепаринизированную плазму обычно используют для биохимического и иммунологического анализа. Основное преимущество использования гепаринизированной плазмы перед сывороткой заключается в сокращении времени на проведение анализа, поскольку в случае плазмы не нужно выжидать время полного свертывания крови. Пробирки с гепарином рекомендуются использовать в лабораториях с большим ежедневным потоком биохимических и/или иммунологических анализов. В вакуумных пробирках используется литиевая или натриевая соль гепарина, распыленная на внутреннюю поверхность пробирки. Гепарин лития используется для клинических анализов крови, гепарин натрия – при подборе дозы и мониторинге терапии препаратами лития. Концентрация гепарина – 17 МЕ на 1 мл пробы.

Крышки в вакуумных пробирках с гепарином имеют цветовую кодировку зеленый/оранжевый и бывают без геля и с гелем.

При взятии образцов крови для исследования системы гемостаза стандартным антикоагулянтом

является цитрат натрия, механизм действия которого основан на связывании ионизированного кальция крови, что ведет к обратимому блокированию процесса коагуляции.

#### 7.3.4.1. Вакуумные пробирки для коагулологических исследований

В вакуумных пробирках для исследования системы гемостаза используется жидкий трехзамещенный цитрат натрия в концентрации:

- 0,105 моль/л; 3,13% (31,3 г/л);
- 0,109 моль/л; 3,20% (32,0 г/л);
- 0,129 моль/л; 3,80% (38,0 г/л).

При централизации исследований показателей гемостаза предпочтительнее использовать 0,109 моль/л (3,20%) тринатрийцитрат лимонной кислоты. Дозировка вакуума в пробирках для коагулологических исследований подобрана таким образом, чтобы обеспечивалось смешивание цитрата натрия с образцом в объемных долях 1:9 (1 часть цитрата и 9 частей крови). Выпускаются как стеклянные, так и пластиковые пробирки с цитратом натрия и крышечкой бледно голубого/зеленого цвета.

Для предотвращения испарения цитрата натрия при хранении пластиковые пробирки производятся рядом компаний по особой технологии и имеют двойные стенки. Для проведения некоторых коагулологических анализов также могут использоваться пробирки с комплексным наполнителем Цитрат натрия/Теофиллин/Аденозин/Дипиридамола. Пробирки с этим наполнителем используются для обычных рутинных коагуляционных тестов, мониторинга терапии гепарином, анализе антигепаринового фактора тромбоцитов IV, β-тромбоглобулина. Пробирки с комплексным наполнителем не используются для анализа агрегации тромбоцитов. Соотношение антикоагулянт/кровь в этих пробирках остается 1:9 при концентрации раствора цитрата 0,109 М. Пробирки с комплексным наполнителем обеспечивают стабильность гепаринизированных образцов до 4 часов при комнатной температуре и соответствие результатов «*in-vitro*» концентрациям антикоагулянта «*in-vivo*».

При взятии проб крови в несколько пробирок у одного пациента пробирка с цитратом должна заполняться до пробирки с активатором свертывания. Очень важно соблюдать правильное соотношение кровь-антикоагулянт в пробе с цитратом. Недостаток цитрата в пробе ведет к образованию микросгустков и/или коагуляции пробы, а избыток цитрата – к искажению результатов анализа за счет связывания кальция из реагентов. Сразу после взятия образца пробирку с цитратом необходимо аккуратно перемешать не менее 5 раз для предотвращения образования микросгустков.

Условия центрифугирования:

- стеклянные пробирки: 1500 g в течение 15 мин.
- пластиковые пробирки: 2000–2500 g в течение 10–15 мин.



### 7.3.4.2. Вакуумные пробирки с гепарином без геля

Вакуумные пробирки с гепарином без геля производятся как с гепарином лития, так и с гепарином натрия, цвет крышки – зеленый/оранжевый. Сразу же после заполнения пробирки и извлечения ее из держателя пробу необходимо тщательно перемешать путем переворачивания 8–10 раз. Центрифугирование следует производить сразу после взятия крови. Условия центрифугирования: 1300 g в течение 10 мин.

### 7.3.4.3. Вакуумные пробирки с гепарином и гелем

В пробирках с гелем используется только литиевая соль гепарина, цвет крышки – светло-зеленый. Сразу же после заполнения пробирки и извлечения ее из держателя пробу необходимо тщательно перемешать путем переворачивания 8–10 раз. Центрифугирование следует производить сразу после взятия крови. Условия центрифугирования: 1500–2000 g в течение 10 мин.

Преимущества использования вакуумных пробирок с гепарином и гелем:

- гелевый барьер способствует стабилизации большинства анализов в течение 24 ч при комнатной температуре (кроме CO<sub>2</sub> и глюкозы);
- после центрифугирования наблюдается существенное снижение количества эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов в плазме;
- после центрифугирования наблюдается уменьшение количества видимых невооруженным глазом агрегатов клеток/фибрина в плазме;
- после центрифугирования плазму можно транспортировать в первичной пробирке без дополнительного аликвотирования пробы.

### 7.3.5. Вакуумные пробирки для исследования ферментов и гормонов (с аprotинином)

Для сохранения нестабильных ферментов и гормонов белковой природы в вакуумных пробирках вместе с антикоагулянтом ЭДТА используется ингибитор протеиназы аprotинин. Аprotинин ингибирует следующие протеолитические ферменты: каликреин, химотрипсин, плазмин, лизосомальные ферменты. Активность аprotинина выражается в каликреин ингибирующих единицах (КИЕ). Аprotинин содержится в количестве 250 КИЕ в пробирках объемом 5 мл и 500 КИЕ в пробирках объемом 10 мл с розовой пробкой. Аprotинин применяется для стабилизации таких гормонов и ферментов, как, например, ренин, АКTH (адренокортикотропный гормон), глюкагон, соматостин, кальцитонин, остеокальцин, β-эндорфин, секретин, нейротензин, вазоактивный интестинальный пептид.

### 7.3.6. Вакуумные пробирки для стабилизации глюкозы

Концентрация глюкозы в пробе цельной крови уменьшается при хранении каждый час на 10%. Если центрифугирование и отделение образца

от клеток крови для анализа глюкозы не может быть проведено в течение 2 часов после взятия крови, то необходимо наряду с антикоагулянтом использовать стабилизатор глюкозы, который предотвращает ее утилизацию эритроцитами. Для стабилизации глюкозы используются вакуумные пробирки с серой крышкой и следующими наполнителями:

- фторид натрия и оксалат калия;
- йодоацетат и лития гепарин;
- фторид натрия и ЭДТА.

Оксалат калия, гепарин или ЭДТА используются как антикоагулянты. Механизм действия оксалата калия схож с ЭДТА (связывание кальция). При наличии стабилизатора концентрация глюкозы остается стабильной в пределах 24 часов (фторид натрия) и до 48 часов (йодоацетат). Фторид ингибирует гликолиз путем блокирования активности фермента энзолазы. Если этот метаболический процесс не подавлять, то он продолжается *in vitro* вследствие потребления красными кровяными клетками глюкозы плазмы, что приводит к снижению ее концентрации в крови. Пробирки со стабилизатором глюкозы должны заполняться полностью до указанного на них объема, избыток оксалата в пробе может вызвать гемолиз. После взятия пробы пробирки следует перемешать, переворачивая 6–8 раз. Поскольку пробирки с фторидом/оксалатом особенно подвержены гемолизу, их необходимо перемешивать с особой осторожностью. Центрифугирование следует производить сразу после взятия крови. Условия центрифугирования: 1300 g в течение 10 мин.

### 7.3.7. Вакуумные пробирки для анализа микроэлементов

Микроэлементы находятся в крови в крайне малых количествах, поэтому материалы, используемые для взятия, хранения и транспортировки пробы, должны исключать возможность загрязнения образца инородными примесями. Специальные вакуумные пробирки для определения микроэлементов с крышкой синего цвета снижают вероятность попадания в пробу инородных микроэлементов из внешней среды и расходных материалов. Вакуумные пробирки для анализа микроэлементов крови выпускаются двух видов:

- пробирки без наполнителя;
- пробирки с K<sub>2</sub> ЭДТА.

Вакуумные пробирки для анализа микроэлементов предназначены для:

- исследования цинка, железа, меди, кальция, селена в крови;
- токсикологических исследований свинца, кадмия, мышьяка, сурьмы.

Важно отметить, что при производстве обычных пробирок антикоагулянт ЭДТА обычно загрязняется ионами металлов, которые могут исказить результаты анализа. Технология производства пробирок для определения микроэлементов с ЭДТА не допускает загрязнения антикоагулянта

посторонними примесями, что обеспечивает высокое качество исследований. Однако следует помнить, что пробирки не стандартизируются по содержанию алюминия, так как этот элемент содержится в материале, из которого сделана пробирка, а также в пробках и иглах. Загрязнение образца во время взятия крови может также происходить за счет иглы, так как иглы, сделанные из нержавеющей стали, могут содержать примеси хрома и марганца. Использование силиконизированных игл значительно снижает вероятность загрязнения пробы через иглу. При анализе сыворотки на наличие микроэлементов в следовых количествах не рекомендуется использовать стандартные вакуумные пробирки для получения сыворотки с красно/белой кодировкой крышек, так как они содержат повышенную концентрацию цинка и других микроэлементов. Следует также избегать использования капиллярной крови, так как при ее взятии повышается вероятность загрязнения образца инородными микроэлементами и другими примесями. Взятие образца крови и пробоподготовка производятся в соответствии с используемым наполнителем. При взятии крови у одного пациента сразу в несколько вакуумных пробирок необходимо соблюдать порядок их заполнения: пробирку для микроэлементов следует заполнять последней для снижения вероятности загрязнения пробы через иглу. Центрифугирование следует производить сразу после взятия крови. Условия центрифугирования: 1300 g в течение 10 минут.

### 7.3.8. Вакуумные пробирки для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики

Пластиковые стерильные вакуумные пробирки для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики используются для взятия проб крови, пробоподготовки, транспортировки и хранения образца неразбавленной плазмы.

Вакуумные пробирки для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики имеют крышку жемчужно-белого цвета и применяются для определения вирусной нагрузки при ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитах. Они также используются для проведения анализов методами молекулярной диагностики, например, ПЦР. Такие пробирки идеально подходят в случае необходимости хранения и транспортировки плазмы. Вакуумные пробирки для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики содержат антикоагулянт K<sub>2</sub> ЭДТА в виде порошка, распыленного на стенках пробирки. Концентрация антикоагулянта в образце – 1,8 мг/мл при полном заполнении кровью объема, указанного на этикетке. В пробирках также содержится полиэфирный гель, позволяющий отделить плазму от клеток крови во время центрифугирования. Супернатант (плазма) практически свободен от эритроцитов

и гранулоцитов, концентрация лимфоцитов и моноцитов в нем незначительна. Следует отметить, что в плазме, приготовленной в таких пробирках, концентрация тромбоцитов может быть выше, чем в цельной крови.

Преимущества использования вакуумных пробирок для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики:

- возможность хранения образца в первичной пробирке;
- повышается качество образца за счет более полного осаждения клеток крови;
- повышается воспроизводимость результатов анализов РНК вирусов СПИД и гепатита;
- снижается риск контаминации образца в стерильных закрытых пробирках;
- повышается безопасность медицинских работников за счет исключения контакта с кровью пациента.

Вакуумные пробирки для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики считаются «золотым стандартом» при исследовании вирусной нагрузки методами молекулярной диагностики.

#### *Взятие образца и пробоподготовка.*

1. Кровь в вакуумные пробирки для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики берется из вены с помощью вакуумной системы.

2. Сразу же после заполнения пробирки и извлечения ее из держателя кровь необходимо тщательно перемешать с антикоагулянтом во избежание образования микросгустков. Для этого пробирку следует аккуратно перевернуть 8–10 раз. Нельзя встряхивать пробирку, так как это может вызвать пенообразование и гемолиз.

3. Образец до центрифугирования следует хранить при комнатной температуре не более 2-х часов, вдали от солнечного света и отопительных приборов.

4. Центрифугировать образец крови в вакуумных пробирках для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики нужно в течение 10 минут при относительной центробежной силе 1100 g при комнатной температуре. Если до центрифугирования пробирка хранилась в холодильнике, ее следует нагреть до комнатной температуры, поскольку динамические свойства геля ухудшаются при низких температурах. Во время центрифугирования формируется устойчивый гелевый барьер между слоем клеток и плазмой. Эритроциты и лимфоциты остаются под слоем геля, а плазма с тромбоцитами над ним.

5. Для дальнейшего исследования неразбавленной плазмы необходимо снять с пробирки крышку и осторожно перелить плазму во вторичную пробирку или перенести ее с помощью пипетки, не нарушая целостности гелевого барьера.

При использовании вакуумных пробирок для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики плазму после

центрифугирования можно транспортировать непосредственно в первичной пробирке. Важно помнить, что поскольку при центрифугировании не все форменные элементы осаждаются полностью и часть их остается в плазме, продукты продолжающегося метаболизма клеток крови могут оказать влияние на показатели и свойства исследуемых аналитов. Поэтому при выборе условий хранения и транспортировки плазмы в вакуумных пробирках для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики следует придерживаться международных и российских рекомендаций для конкретных аналитов.

Плазму в вакуумных пробирках для получения плазмы и проведения анализов методами молекулярной диагностики можно хранить в замороженном виде при  $-70^{\circ}\text{C}$ . В пробирках стабильность РНК вируса СПИД и вируса гепатита С сохраняется в течение 72 часов при комнатной температуре.

#### **7.3.9. Вакуумные пробирки для иммуногематологических исследований**

Вакуумные пробирки для иммуногематологических исследований – это пробирки для стабилизации цельной крови. Они содержат комбинированный наполнитель ACD, состоящий из активного антикоагулянта тринатрия цитрата, лимонной кислоты, которая обеспечивает буферный раствор с тринатрия цитратом, и декстрозы, являющейся питательным веществом для эритроцитов. Существуют только стеклянные пробирки с ACD, которые имеют светло-желтую крышку. Пробирки с ACD обычно используются в отделениях иммунной гематологии для анализа поверхностных антигенов лейкоцитов (HLA-типирование, некоторые приложения проточной цитометрии, исследование функций лейкоцитов и специальные иммунологические тесты). В пробирках наполнитель ACD присутствует в двух видах: раствора ACD – А и раствора ACD – В, различающихся концентрацией составляющих наполнителя. В растворе ACD-А используется соотношение консерванта к крови 1:5,67, в растворе ACD-В соотношение консерванта к крови составляет 1:3. Цельная кровь смешивается с образцом в соотношении 1:6 (1 часть ACD обеих концентраций к 6 частям образца). Сразу же после заполнения пробирки с ACD пробу необходимо тщательно перемешать путем переворачивания 8–10 раз. Условия центрифугирования: 1300 g в течение 10 минут.

#### **7.3.10. Вакуумные пробирки для выделения моноцитов и лимфоцитов**

Вакуумные пробирки для выделения моноцитов и лимфоцитов – это специальные пробирки, которые позволяют отделить мононуклеарные клетки периферической крови в один прием, за 20 минут центрифугирования, при этом цельная кровь набирается, центрифугируется

и обрабатывается в одной первичной пробирке. Внутренние стенки пробирок покрыты силиконом для минимизации неспецифической активации клеток.

Вакуумные пробирки для выделения моноцитов и лимфоцитов содержат:

- антикоагулянт (натрия цитрат или натрия гепарин);
- разделительный гель;
- специальную жидкость фиколл, создающую градиент плотности, для разделения мононуклеаров.

Вакуумные пробирки для выделения моноцитов и лимфоцитов выпускаются двух видов с сине-черной пестрой пробкой (пробирки с натрия цитратом) и с красно-зеленой пестрой пробкой (пробирки натрия гепарином).

В практике КДЛ вакуумные пробирки для выделения моноцитов и лимфоцитов применяют в целях исследования:

- количественных и функциональных характеристик мононуклеарных клеток;
- пролиферативной активности мононуклеарных клеток;
- РНК/ДНК клеток и вирусов;
- обнаружения злокачественных новообразований;
- HLA-типирования;
- генетических маркеров;
- провирусной ДНК ВИЧ, РНК ВИЧ и др. вирусов.

Преимущества использования вакуумных пробирок для выделения моноцитов и лимфоцитов:

- значительно облегчается процесс отделения мононуклеарных клеток, экономится время лаборанта и повышается эффективность работы лаборатории;
- гарантируется стандартизация процесса отделения мононуклеарных клеток, повышается точность исследований при использовании образцов, доставленных из различных ЛПУ;
- снижается вероятность ошибок, которые происходят при отделении мононуклеарных клеток вручную.

#### *Взятие образца и пробоподготовка.*

1. Кровь в вакуумные пробирки для выделения моноцитов и лимфоцитов берется из вены с помощью вакуумной системы.

2. Так как в пробирке содержится химический наполнитель, то нужно обращать особое внимание на предотвращение обратного тока крови: во время взятия крови рука пациента должна находиться в опущенном состоянии, пробирку необходимо поддерживать в вертикальном положении и контролировать, чтобы содержимое пробирки не касалось крышки и мембраны иглы.

3. Сразу же после заполнения пробирки и извлечения ее из держателя кровь необходимо тщательно перемешать с антикоагулянтом, для этого пробирку следует аккуратно перевернуть 8–10 раз. Нельзя встряхивать пробирку, так как это может вызвать пенообразование и гемолиз.



4. Пробу крови до центрифугирования следует хранить при комнатной температуре не более 2-х часов, вдали от солнечного света и отопительных приборов.

5. Центрифугировать пробу крови нужно строго в течение 20 минут в горизонтальной центрифуге при относительной центробежной силе 1500–1800 g. Меньшее время и/или относительная центробежная сила отрицательно сказывается на эффективности действия пробирки. Большее время и/или относительная центробежная сила может привести к уменьшению выхода моноядерных клеток. Во время центрифугирования формируется устойчивый гелевый барьер между слоем беловатого цвета, содержащим мононуклеарные клетки, распределенные в градиенте плотности над гелем, и слоем эритроцитов и гранулоцитов под гелем.

После центрифугирования моноядерные клетки можно транспортировать и хранить непосредственно в первичной пробирке, в этом случае плазма служит для клеток питательной средой. В таком виде мононуклеарные клетки могут храниться до 48 часов при комнатной температуре. Нужно учитывать, что точное время хранения определяется типом проводимого исследования. Для максимального выхода мононуклеарных клеток закрытую пробирку нужно сразу же после центрифугирования аккуратно перевернуть 5–10 раз, чтобы равномерно распределить клетки в плазме. Гелевый барьер при этом не нарушается. Затем суспензию плазмы и клеток над гелевым барьером следует осторожно перелить или перенести пипеткой во вторичную пробирку для промывания клеток и добавить в нее буферный раствор, доведя общий объем до 15 мл. Нельзя использовать буферы, содержащие кальций и/или магний. При промывании клеток следует придерживаться стандартного протокола, принятого в лаборатории. Если помимо анализа моноядерных клеток необходимо провести дополнительное исследование плазмы, ее нужно осторожно отобрать пипеткой над поверхностью клеточного слоя, а затем добавить в вакуумную пробирку 3–5 мл буферного раствора для промывания клеток.

#### 7.4. Иглы для взятия проб венозной крови

7.4.1. Стерильная одноразовая двусторонняя игла с визуальной камерой (или без камеры), закрытая с обеих сторон защитными колпачками является важнейшей составляющей вакуумной системы для взятия проб венозной крови. Иглы могут быть покрыты или не покрыты силиконом. Снимаемый колпачок иглы закодирован цветом, который говорит о ее размере. Для взятия проб венозной крови используют следующие иглы:

- иглы 20G – желтая маркировка колпачка: диаметр 0,9 мм, длина – 25 мм (1 дюйм) или 38 мм (1,5 дюйма);

- иглы 21G – зеленая маркировка колпачка: диаметр 0,8 мм, длина – 25 мм (1 дюйм);

- иглы 22G – черная маркировка колпачка: диаметр 0,7 мм, длина – 25 мм (1 дюйм) или 32 мм (1,25 дюйма).

7.4.2. Выбор размера иглы для взятия проб крови определяется состоянием вен у каждого конкретного пациента. Наиболее широко используются иглы 21G. При необходимости взять у пациента несколько проб крови для анализа предпочтение следует отдавать иглам с большим диаметром (20G), а в трудных случаях (склерозированные вены, тонкие вены, ожирение), у детей, иглам с меньшим диаметром (22G).

7.4.3. Для взятия проб венозной крови предпочтительно использовать иглы с визуальной камерой, которые позволяют осуществлять контроль попадания в вену при проведении венопункции, и покрытые силиконом, что обеспечивает свободный ток крови по игле в вакуумную пробирку и снижает риск гемолиза.

7.4.5. У детей и в трудных случаях у взрослых (склерозированные вены, тонкие вены, ожирение) для взятия проб венозной крови необходимо использовать одноразовые стерильные иглы-«бабочки» с гибким катетером. Игла соединена с катетером при помощи люер-адаптера. «Бабочки» игл закодированы цветом, который говорит о ее размере. Для взятия проб венозной крови используют следующие иглы-«бабочки» с катетером:

- иглы 21G – зеленая маркировка бабочки: диаметр 0,8 мм, длина – 19 мм (0,75 дюйма), длина катетера 178 мм (7 дюймов) или 305 мм (12 дюймов);

- иглы 23G – голубая маркировка бабочки: диаметр 0,6 мм, длина – 19 мм (0,75 дюйма), длина катетера 178 мм (7 дюймов) или 305 мм (12 дюймов);

- иглы 25G – синяя маркировка бабочки: диаметр 0,5 мм, длина – 19 мм (0,75 дюйма), длина катетера 178 мм (7 дюймов) или 305 мм (12 дюймов).

#### 8. Оптимальный объем пробы крови на лабораторные анализы

Технические усовершенствования анализаторов в КДЛ за последние 15 лет привели к существенному сокращению необходимого объема крови для выполнения лабораторных анализов. Существующая практика в ЛПУ РФ в отношении взятия проб крови на анализы в стеклянные пробирки приводит к избыточности объема взятых проб крови. Проведенными исследованиями установлено, что у пациентов за время его пребывания в терапевтическом отделении для выполнения назначенных ему 42 лабораторных анализов берут 208 мл крови и более. При лечении в отделении реанимации количество крови, взятой для 125 анализов, составляет 550 мл и более. Установлено, что у 50% пациентов, которым проводится переливание

крови, более 180 мл крови идут на восполнение кровопотери связанной с взятием проб крови на лабораторные анализы.

Согласно рекомендациям ВОЗ, объем пробы крови (Vol b), необходимой для выполнения лабораторных анализов определяется:

1. Объемом пробы для анализа (Vol á);
2. Объемом «мертвого» пространства анализатора (Da), измеряемого в мл плазмы/сыворотки.
3. Объемом «мертвого» пространства первичной пробирки (Dr), измеряемого в мл крови.
4. Объемом «мертвого» пространства вторичной пробирки (Ds), измеряемого в мл плазмы/сыворотки.
5. Количеством пробы для 1 анализа (N) и числом лабораторных анализов (X).
6. Величиной гематокрита.

Принимая во внимание все эти факторы и исходя из того, что плазма/сыворотка составляют примерно 50% объема крови, общий необходимый объем пробы рассчитываю по следующей формуле:

$$\text{Vol b} = 2 \times [N \times (\text{Vol á} + \text{Da}) + \text{Ds}] + \text{Dr}$$

Необходимый объем крови = 2 x [число тестов x (объем пробы для анализа + мертвое пространство анализатора) + мертвое пространство вторичной пробирки] + мертвое пространство первичной пробирки.

#### 8.1. Определение оптимального объема пробы крови для взятия на лабораторные исследования

При использовании современных автоматизированных лабораторных анализаторов рекомендуются следующие стандартные объемы проб крови на лабораторные исследования. Эти объемы могут быть достаточны в 95% случаев для выполнения назначенных лабораторных анализов:

- биохимические исследования: 4-5 мл крови (при использовании гепаринизированной плазмы – 3-4 мл);
- гематологические исследования (общий анализ крови): 2-3 мл крови с ЭДТА;
- коагулология: 2-3 мл цитратной крови;
- иммунологические исследования, включая белки, гормоны, онкомаркеры и т.д.: 1 мл цельной крови на 3-4 иммунологических анализа;
- СОЭ: 2-3 мл цитратной крови;
- Газы крови: капиллярная кровь – 50 мкл; артериальная или венозная кровь – 1 мл гепаринизированной крови.

При централизации лабораторных исследований должны использоваться вакуумные пробирки унифицированного объема (например, вакуумные пробирки объемом 4-5 мл для биохимических и серологических исследований и объемом 3-4 мл для исследования гемостаза). При выборе вакуумных пробирок необходимо



ООО «ВитаЛаб»

ИНДИКАТОРЫ для контроля холодовой цепи "ТЕРМОТЕСТ" (Россия), ИНДИКАТОРЫ стерилизации "БИОСТЕР" (Россия), салфетки и гели "Колетекс", диагностические наборы и реагенты, расходные материалы и оборудование для лабораторий

8121 740-71-04 740-71-05  
www.vita-lab.sph.ru

www.farosplus.ru

учитывать тот факт, что длина пробирок, должны быть, по меньшей мере, в 4 раза больше диаметра. Этим критериям соответствуют стандартные вакуумные пробирки размером 75х13 мм (длина х диаметр).

### 8.2. Максимально допустимые объемы крови для взятия на лабораторные исследования

При взятии крови на исследования важно знать максимальные нормы крови (особенно у детей), которые можно брать у пациента за один раз и за все время госпитализации. Незнание таких норм может в конечном счете (при частых и обширных исследованиях) привести к развитию у пациента изменений в показателях крови (снижение гемоглобина, гематокрита, эритроцитов и др.) без влияния патологического процесса. Проведенные исследования показали, что при взятии крови на рутинные исследования в обычные стеклянные пробирки взятый объем крови у пациента в среднем в 45 раз превышал необходимый для анализов, при взятии крови в вакуумные пробирки только в 7 раз.

Максимальные нормы взятия крови за один раз и за все время госпитализации у детей до 14 лет приведены в табл. 2. У взрослых людей рекомендуется брать вдвое больше крови, чем необходимо для выполнения лабораторных анализов.

### 8.3. Меры по снижению необходимого объема пробы на лабораторные анализы

Меры по снижению необходимого объема пробы на лабораторные анализы при централизации лабораторных исследований должны включать:

- использование первичной вакуумной пробирки в анализаторах;
- использование вакуумных пробирок меньшего диаметра;
- использование в централизованной КДЛ анализаторов с меньшим объемом аналитической пробы;
- хранение проб в первичных вакуумных пробирках, например, с использованием геля для сыворотки;
- использование в централизованной КДЛ для анализа плазмы вместо сыворотки.

## 9. Выбор процедуры взятия крови

Для получения крови для клинических лабораторных исследований используются три процедуры:

- венепункция;
- взятие капиллярной крови;
- пункция артерии.

При централизации лабораторных исследований основным материалом исследования служит венозная кровь. Лучшим местом взятия

**Т а б л и ц а 2. Максимальные нормы взятия крови за один раз и за все время госпитализации у детей до 14 лет**

Вес пациента, кг	Максимальная норма взятия крови за 1 раз, мл	Максимальная норма взятия крови за весь период госпитализации, мл
2,7–3,6	2,5	23
3,6–4,5	3,5	30
4,5–6,8	5	40
7,3–9,1	10	60
9,5–11,4	10	70
11,8–13,6	10	80
14,1–15,9	10	100
16,4–18,2	10	130
18,6–20,5	20	140
20,9–22,7	20	160
23,2–25,0	20	180
25,5–27,3	20	200
27,7–29,5	25	220
30,0–31,8	30	240
32,3–34,1	30	250
34,5–36,4	30	270
36,8–38,6	30	290
39,1–40,9	30	310
41,4–43,2	30	330
43,6–45,5	30	350

венозной крови на анализы является локтевая вена. Венозная кровь – лучший материал не только для определения биохимических, гормональных, серологических, иммунологических показателей, но и для общеклинического исследования крови. Это обусловлено тем, что применяемые в настоящее время гематологические анализаторы, с помощью которых проводят общеклинические исследования крови (подсчет клеток крови, определение гемоглобина, гематокрита и др.), предназначены для работы с венозной кровью, и в большинстве своем в тех странах, где эти анализаторы производятся, они сертифицированы и стандартизованы, только для работы с венозной кровью. Выпускаемые фирмами калибровочные и контрольные материалы предназначены для калибровки гематологических анализаторов по венозной крови. Помимо этого, при взятии крови из пальца возможен ряд методических особенностей, которые стандартизировать очень трудно (холодные, цианотичные, отекающие пальцы, необходимость в разведении исследуемой крови и др.), что приводит к значительным разбросам в получаемых результатах и, как следствие, к необходимости повторных исследований для уточнения результата. Для общеклинического исследования кровь из пальца рекомендуется брать в следующих случаях:

- при ожогах, занимающих большую площадь поверхности тела пациента;
- при наличии у пациента очень мелких вен или когда они труднодоступны;
- при выраженном ожирении пациента;
- при установленной склонности к венозному тромбозу;
- у новорожденных.

Пункция артерии для взятия крови на лабораторные исследования используется редко, в основном для исследования газов крови.

## 10. Порядок проведения процедуры взятия крови из вены

### 10.1. Общие положения

Специалист, осуществляющий взятие проб крови на лабораторные исследования, должен строго выполнять следующие требования.

1. Кровь и другие биологические жидкости всех больных заведомо должны рассматриваться как инфицированные.

2. Медицинская сестра или лаборант обязаны работать в перчатках при соприкосновении с кровью или другими жидкостями организма, со слизистыми оболочками или с интактной кожей всех пациентов, при работе с загрязненными предметами или поверхностями, при проведении

венепункции или проколе кожи. Поэтому специалист, осуществляющий забор крови, обязан или дезинфицировать перчатки, переходя от одного пациента к другому, или сменять перчатки, если они одноразовые. Все другие предметы (принадлежности), используемые при заборе крови, необходимо проверять (исправность, срок годности, достаточное количество) и располагать на рабочем месте так, чтобы их при необходимости можно было легко взять.

3. Специалист, берущий кровь, должен быть эмоционально подготовлен к процедуре. Его внешний вид, настроение, поведение, практические навыки, умение общаться с пациентом имеют большое значение для установления рабочего контакта с ним.

4. Специалист, осуществляющий венепункцию или взятие крови из пальца, должен подготовить все необходимое для этого: перчатки, вакуумные пробирки, иглы, жгут, 70% этиловый (или изопропиловый) спирт, марлевые тампоны, бинты, ватные шарики. Оборудование и принадлежности располагают так, чтобы к ним был легкий доступ, но чтобы они не мешали пациенту и он не мог случайно их задеть, уронить, повредить.

## 10.2. Подготовка пациента

Процедурная медицинская сестра или лаборант должны поприветствовать пациента в дружелюбной профессиональной манере. Если пациент пришел в процедурный кабинет, необходимо спросить: «Как Вас зовут?» или «Как Ваши фамилия, имя, отчество? Скажите мне дату Вашего рождения?» или «Сколько Вам лет?» Сравните ответ пациента с имеющейся у Вас информацией (надпись на заявке, данные на компьютере или на листе назначения). Если больной находится в палате, постучите в дверь и войдите. Сравните Ваши данные о пациенте с теми, что вы можете получить у самого больного или с указанными в табличке на его койке (обычно на табличке указывают паспортные данные и номер истории болезни). Сообщите пациенту, кто Вы и зачем пришли. Если возникли трудности с идентификацией пациента, позвоните постовую медицинскую сестру и уточните у нее необходимые данные. Обратите особое внимание на идентификацию детей, которым необходимо взять кровь. Не берите кровь без точной идентификации пациента.

Процедурная медицинская сестра или лаборант должны сообщить пациенту, что венепункция или прокол пальца являются несколько болезненной процедурой. Никогда не следует говорить пациенту: «Это совсем немного». Пациент может бояться самой процедуры венепункции. Поэтому важно спокойно и доверительно, простыми словами объяснить ему, как берется кровь и что дискомфорт и болезненные ощущения обычно исчезают после введения иглы в вену. Если пациенту когда-либо ранее плохо переносил

взятие крови, лучше предложить ему лечь во время процедуры.

## 10.3. Положение пациента при взятии проб венозной крови

Положение пациента при взятии проб венозной крови имеет важное значение в обеспечении комфорта и безопасности пациента, а также удобства проведения венепункции для процедурной медицинской сестры. Лучше брать кровь, если пациент лежит на кушетке или сидит откинувшись на наклонную спинку кресла; следует учитывать опасность потери сознания больным. Всегда нужно проверить, удобно ли ему.

*Положение сидя.* Пациент удобно сидит в кресле, положив руку на подлокотник (или на стол) так, чтобы она была почти прямой от запястья до плеча и имела хорошую опору. Ее чуть-чуть сгибают в локте. Процедурная сестра должна находиться перед пациентом, чтобы в случае обморока поддержать его и не дать ему упасть.

*Положение лежа.* Пациент удобно располагается на спине. Если нужна дополнительная опора для руки, под нее подкладывают подушку. Рука должна быть почти прямой (чуть согнутой в локте). Пациент не должен испытывать никакого физического напряжения при удержании руки в нужном положении.

## 10.4. Техника проведения венепункции и взятия проб крови с использованием вакуумных систем

10.4.1 Выберите наиболее доступную вену (самую наполненную). Проверьте другую руку, возможно, там вены «лучше». Попросите пациента 3–4 раза сжать и разжать кулак (не более, так как интенсивное и длительное сжимание и разжимание кулака могут повлиять на некоторые показатели крови). Указательным пальцем прощупайте вену, определите направление ее хода. Тромбированные вены неэластичны, похожи на жесткий жгут и очень легко смещаются. Обычно в первую очередь используют медианную (среднюю) кубитальную вену. Место сгиба локтевого сустава является лучшим местом для венепункции. V. cephalica является второй веной, удобной для пунктирования. В крайнем случае используют v. basilica. Вены на кисти, предплечье, на стопе или в районе голеностопного сустава используют, если нет возможности взять кровь из локтевых вен. Если не удается найти подходящую вену, поступайте следующим образом:

- попробуйте найти вену на другой руке;
- попросите пациента сжать кулак;
- наложите жгут, но помните, что жгут может быть затянут максимально в течение 2 мин;
- помассируйте руку от запястья к локтю;
- постарайтесь нащупать своим указательным пальцем вену пациента;
- подогрейте место венепункции, чтобы усилить кровоток: для этого полотенце или ткань смачивают водой при 42°C, помещают в

полиэтиленовый пакет и прикладывают к поверхности кожи; через 3–10 мин развивается гиперемия;

- попросите пациента опустить руку ниже.

Если с первого раза подходящую вену не удалось обнаружить, то необходимо снять жгут и попросить пациента 1–2 мин подвигать рукой и вновь наложить жгут. Если вены тонкие, используют более тонкие иглы.

Использование портативного ручного прибора для просмотра периферических вен значительно облегчает поиск и в большинстве случаев позволяет избежать использования этих процедур.

10.4.2. Выберите участок вены, из которого будете брать кровь. Наложите жгут на руку пациента. Жгут затягивают туго, но так, чтобы это не вызывало боли. Лучше всего вместо жгута использовать манжетки от аппарата для измерения давления. В этом случае давление в манжетке должно быть ниже систолического, но выше диастолического. Это идеальный вариант. Накладывать жгут можно не более чем на 2 мин, иначе начнется гемоконцентрация, что приведет к увеличению концентрации белков в крови, количества клеток и факторов коагуляции.

10.4.3. Прозеинфицируйте место пункции, используя тампон (или салфетку), смоченную спиртом (лучше 70% раствором изопропанола или 1% раствором йода). Протрите им поверхность, двигая тампон от центра к периферии по кругу. Обработанная поверхность должна высохнуть. Ничто нестерильное не должно прикасаться к этой поверхности. Только после дезинфекции перчаток можно начать венепункцию.

10.4.4. Проверьте иглы, держатели и необходимые вакуумные пробирки перед проведением венепункции. Колпачок с иглы снимают непосредственно перед венепункцией. Если случайно Вы дотронулись иглой до чего-то нестерильного, то иглу нужно заменить.

10.4.5. Взять иглу левой рукой за цветной колпачок, правой рукой вывернуть и снять белый защитный колпачок.

10.4.6. Ввернуть в держатель освободившийся конец иглы в резиновом чехле и закрутить до упора.

10.4.7. Снять цветной защитный колпачок с иглы.

10.4.8. Одной рукой процедурная медицинская сестра с помощью большого пальца натягивает кожу над веной. Держатель держат так, чтобы игла была расположена срезом вверх и по отношению к коже под углом 15°. Прокалывают кожу и стенку вены. Движения должны быть плавными, но быстрыми. Иглу не следует погружать глубоко. Когда игла войдет в вену, Вы увидите это по тому, что визуальная камера заполнится кровью, иглу немного вытягивают назад. Необходимо обратить внимание, не находится ли срез иглы под кожей. Если это произошло, то указательным пальцем левой руки определяют



вену и направляют иглу вперед, чтобы вновь войти в вену. После этого иглу не двигают.

10.4.9. Взять держатель левой рукой, а в правую руку взять пробирку и вставить ее крышкой в держатель. Удерживая выступы держателя указательным и средним пальцами правой руки, большим пальцем надеть пробирку на иглу до упора. В случае если вены у пациента «хорошие», жгут может быть ослаблен после того, как кровь начинает поступать в вакуумную пробирку. Если вены маленькие и/или сложные для прокола, лучше всего жгут не ослаблять, но не более чем на 1 мин. Никогда не вынимают иглу из вены при затынутом жгуте.

10.4.10. Вакуумная пробирка должна наполниться, при этом произойдет смешивание крови с антикоагулянтом или консервантом в правильном соотношении. Каждая пробирка содержит количество реагента, строго определенное для указанного на ней объема крови. Пробирки должны заполняться полностью, в пределах  $\pm 10\%$  от указанного объема (т.е. пробирка на 4,5 мл должна заполняться в объеме между 4 и 5 мл). Неправильное соотношение кровь/реагент в пробе ведет к ошибочным результатам анализа. После заполнения пробирки до необходимого объема извлечь ее из держателя. Аккуратно перемешать содержимое заполненной пробирки, переворачивая ее необходимое число раз. Перемешивание проводят осторожно во избежание гемолиза. Никогда нельзя встряхивать

вакуумную пробирку! Если есть необходимость в дополнительном количестве проб крови в соответствии с заявкой, то, не вынимая иглы из вены, вставить в держатель следующую пробирку. Набирают кровь во вторую пробирку и, если крови взято достаточно, отсоединяют вторую пробирку от иглы.

10.4.11. В случае если почему-либо кровь перестает поступать в вакуумную пробирку, иглу надо подвигать взад-вперед. Обычно это действие улучшает ток крови в вакуумную пробирку. Затем иглу следует повернуть наполовину оборота, а жгут, если он был затянут очень туго, ослабить. Повторный прокол этой же вены весьма болезнен, поэтому делать это не рекомендуется. Если ни одна из перечисленных процедур не помогла, то иглу надо вынуть и искать другое место для венопункции.

10.4.12. Когда две попытки венопункции не удалось, необходимо позвать на помощь более опытных специалистов для взятия крови; в любом случае обязательно сообщить об этом лечащему врачу и сделать запись в рабочем журнале.

10.4.13. Как только кровь получена, на место пункции над иглой кладут стерильный марлевый тампон и осторожно извлекают иглу вместе с держателем, слегка нажимая тампоном на место пункции во время извлечения иглы. На тампон и кожу наклеивают полоску липкой ленты, и пациент сгибает руку в локте, чтобы прижать тампон (на 10 минут). Если необходимо, на место пункции

накладывают давящую повязку, чтобы не образовалась гематома.

10.4.14. Вакуумные пробирки с пробами крови размещают в штативе.

10.4.15. Иглу вместе с держателем поместить в специальный контейнер для использованных игл.

10.4.16. Все вакуумные пробирки снабжаются этикетками, где должны быть указаны Ф.И.О. пациента, номер истории болезни, отделение, палата, дата и время взятия крови, подпись процедурной сестры. Этикетки с необходимыми данными о пациенте никогда не следует заполнять заранее, так как при большом количестве проб их очень легко перепутать.

10.4.17. Использованные для венопункции материалы и предметы разового пользования помещают в соответствующие контейнеры для отходов.

Техника проведения венопункции и взятия проб крови с использованием вакуумных систем представлена на рис. 8., а на серии рис. 9-13 приведена подробная последовательность действий медицинской сестры при взятии проб венозной крови.

10.4.18. Сразу после выполнения перечисленных выше процедур промаркируйте взятые пробы крови, указав на этикетке каждого вакуумного контейнера Ф.И.О. пациента, N истории болезни (амбулаторной карты), дату и время взятия крови, подпишитесь на каждой этикетке пробирки.

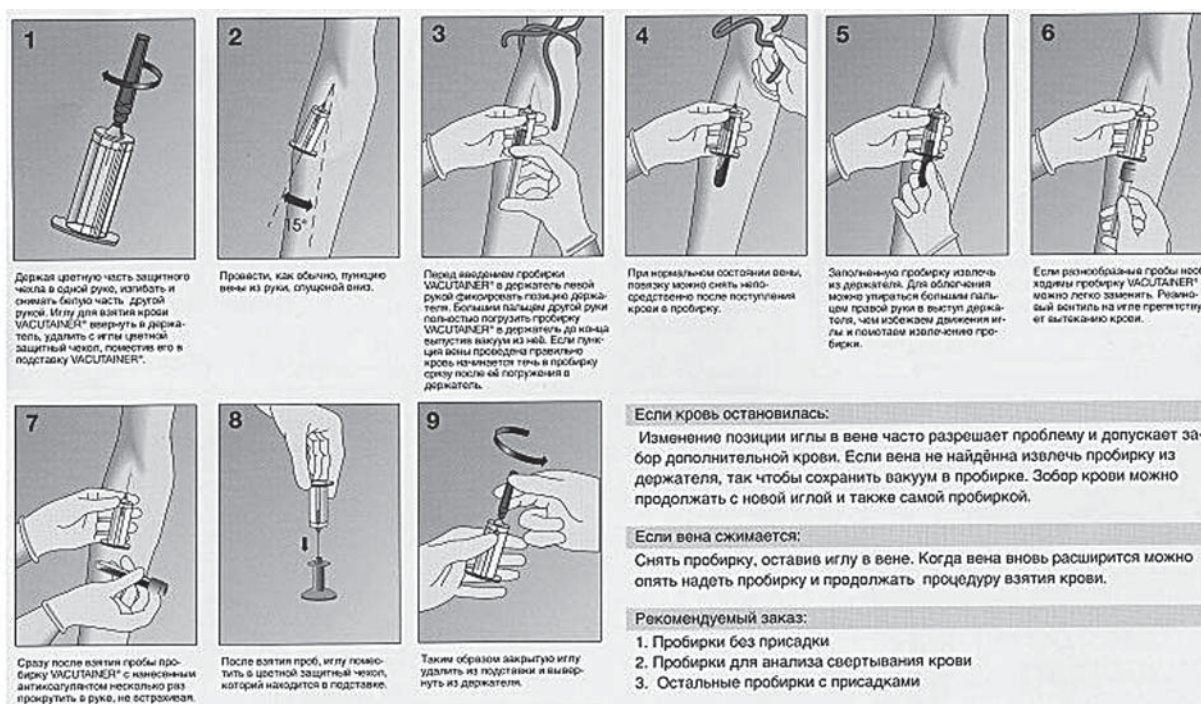


Рис. 8. Методика взятия крови с использованием системы «Вакутейнер».

## I. Подготовка к процедуре

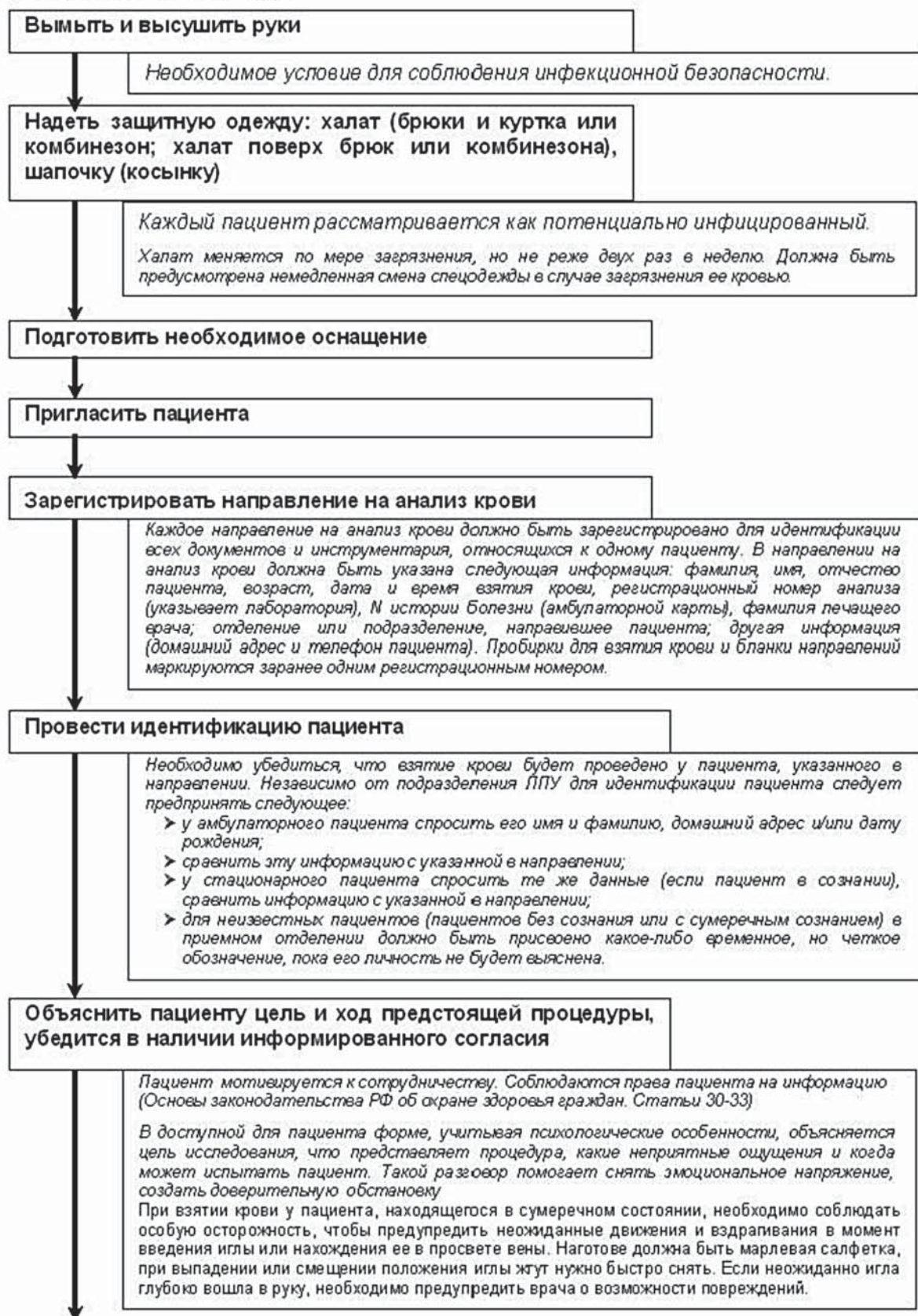


Рис. 9. Последовательность действий медицинской сестры при взятии проб венозной крови.





Рис. 10. Последовательность действий медицинской сестры при взятии проб венозной крови.



## II. Выполнение процедуры

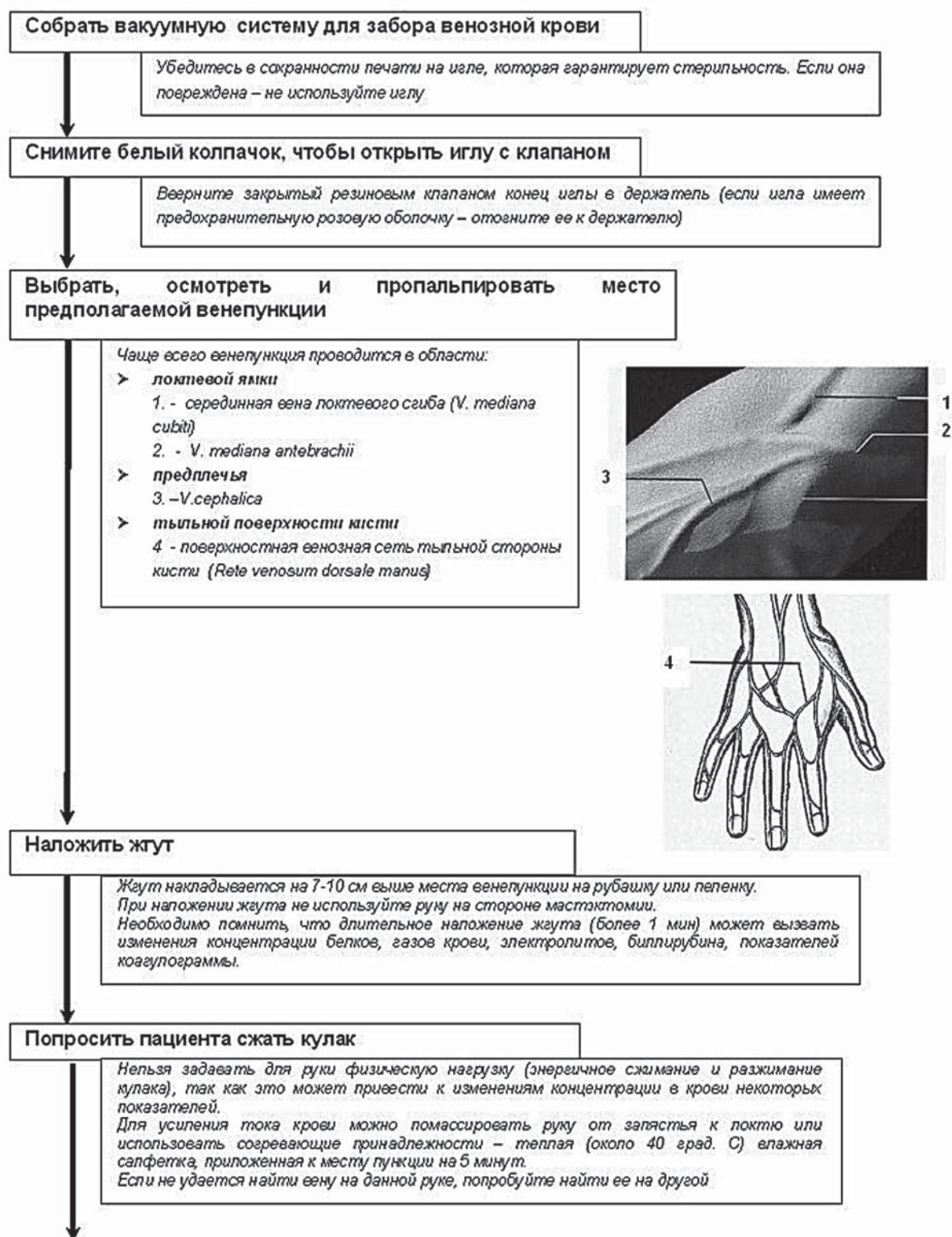


Рис. 11. Последовательность действий медицинской сестры при взятии проб венозной крови.

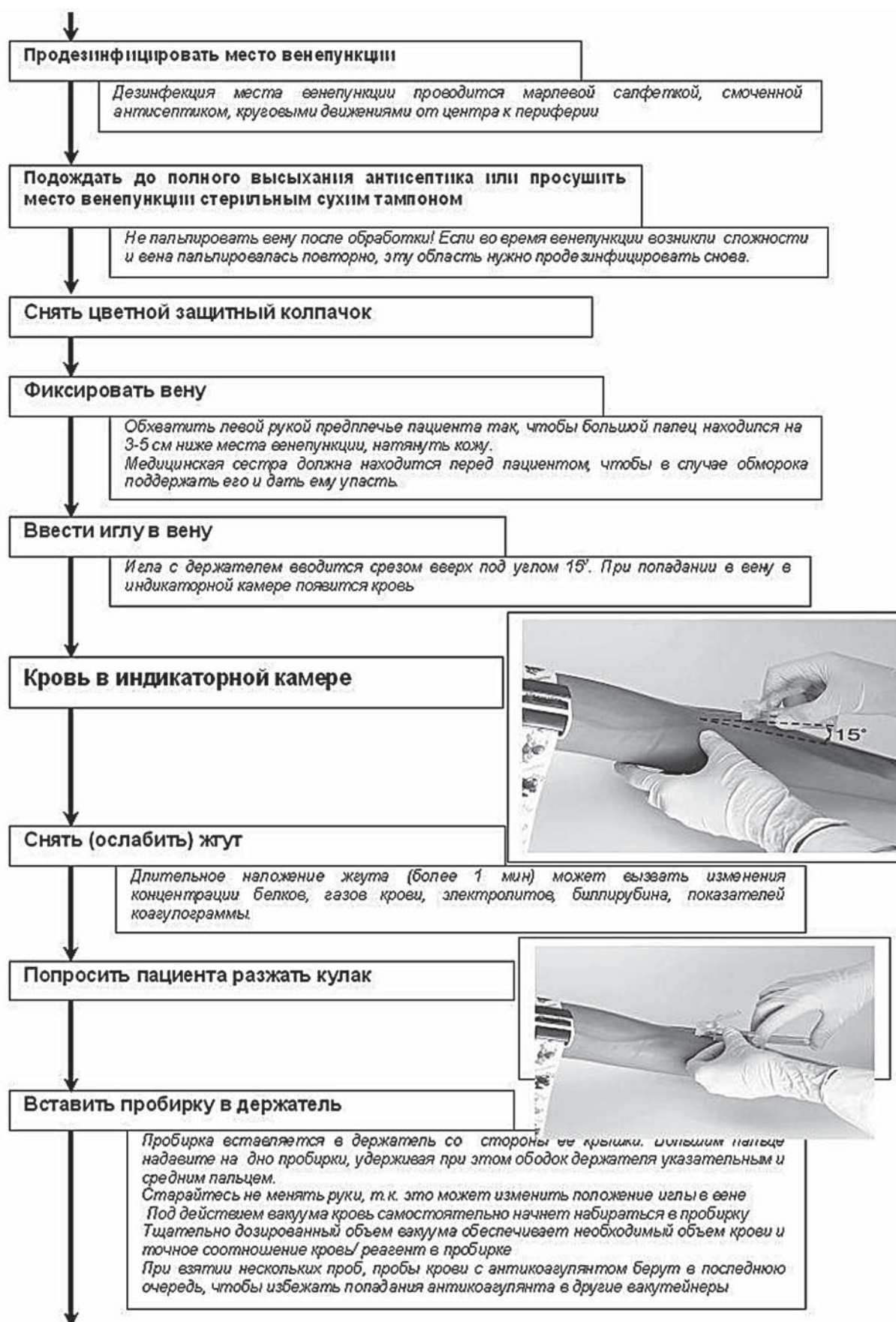
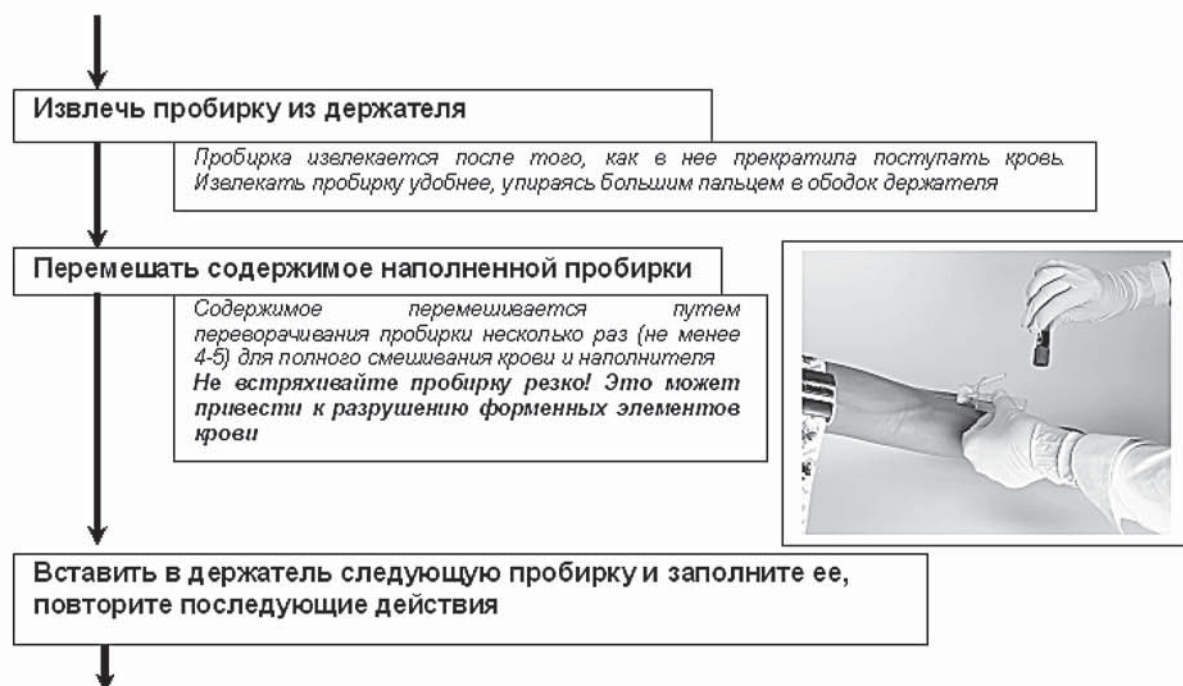


Рис. 12. Последовательность действий медицинской сестры при взятии проб венозной крови.





### III. Окончание процедуры

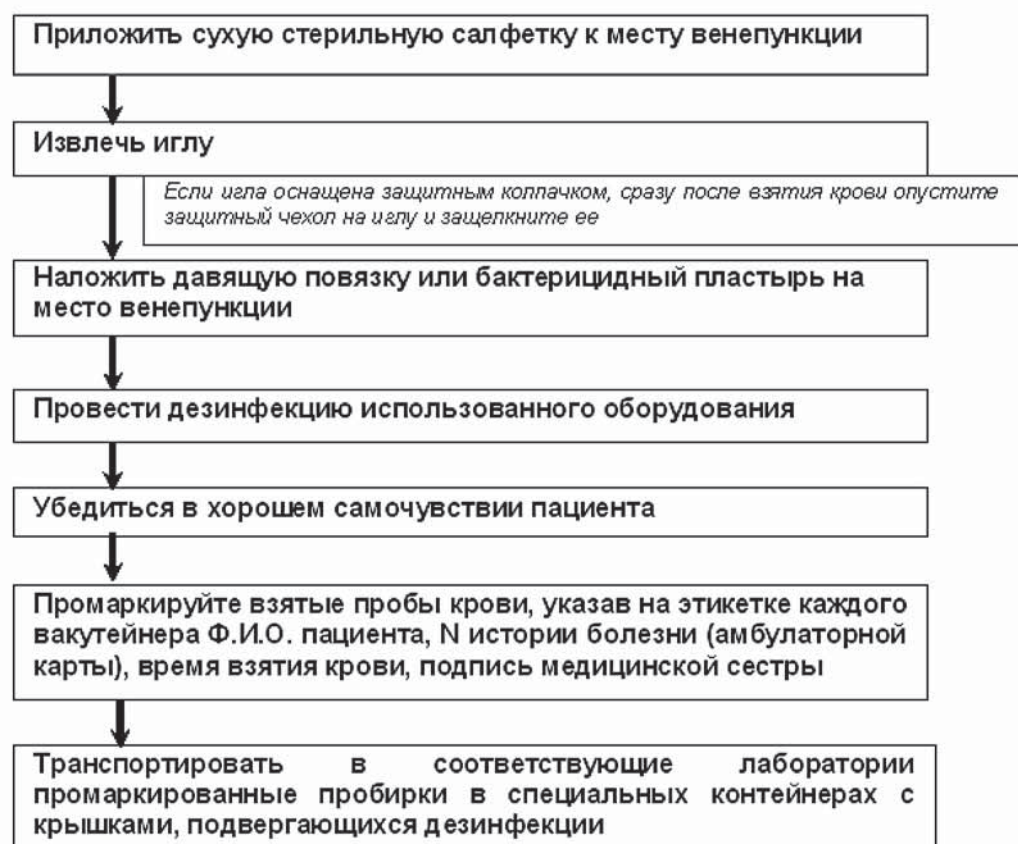


Рис. 13. Последовательность действий медицинской сестры при взятии проб венозной крови.



Т а б л и ц а 3. Последовательность заполнения вакуумных пробирок и число перемешиваний при взятии проб крови

Цветовой код крышки	Число перемешиваний	Область применения	Химические наполнители
Красный/белый	—	Исследования сыворотки в клинической биохимии, серологии, иммунологии	Без наполнителя
Желтый	5-6 раз	Исследования сыворотки в клинической биохимии, серологии, иммунологии	Активатор свертывания и разделительный гель
Бледно-голубой/зеленый	3-4 раза	Для исследования системы гемостаза	3,13% забуференный цитрат натрия
Черный/розовато-лиловый	8-10 раз	Для определения СОЭ	3,13% цитрат натрия
Зеленый/оранжевый	8-10 раз	Исследования сыворотки в клинической биохимии, серологии, иммунологии и получения форменных элементов крови	Гепарин
Сиреневый/красный		Гематологические исследования цельной крови	ЭДТА
Серый	8-10 раз	Исследование глюкозы	Фторид натрия/Оксалат калия; Литий йодоацетат/литий гепарин
Синий	8-10 раз	Исследование микроэлементов	Без наполнителя; Натрий гепарин; ЭДТА

#### 10.5. Требования к последовательности заполнения вакуумных пробирок при взятии проб крови на различные виды анализов

В случае, когда у одного пациента кровь берется в несколько пробирок, необходимо соблюдать правильную последовательность их заполнения для предотвращения возможной перекрестной контаминации пробы реагентами из других пробирок. Последовательность заполнения пробирок приведена в табл. 3.

#### 10.6. Требования к перемешиванию проб крови

Сразу после заполнения и извлечения вакуумной пробирки из держателя ее нужно аккуратно перевернуть несколько раз (количество раз определяется типом наполнителя) на 180° для смешивания пробы с наполнителем (см. табл. 3). В плохо перемешанной пробе образуются микросгустки, ведущие к искажению результатов исследований, а также к поломкам лабораторных анализаторов вследствие закупорки пробозабирающих зондов. Пробу ни в коем случае нельзя трясти – это также может вызвать коагуляцию и гемолиз.

#### 11. Оценка качества взятых проб крови

В централизованную КДЛ необходимо направлять качественные пробы крови, только в этом случае будут получены правильные результаты лабораторных исследований. После взятия проб крови у конкретного пациента процедурная медицинская сестра должна оценить качество полученных проб. Такая оценка проводится путем ответов на приведенные ниже вопросы.

1. Правильно ли пациент подготовлен к взятию крови? Лекарства были исключены, если это возможно?

2. Взята ли кровь натошак? Действительно ли она взята натошак?

3. Необходимые для исследования пробы взяты у нужного пациента и правильно промаркированы (этикеткой)? Неправильно маркированный или немаркированный материал, доставленный в лабораторию, не принимается (выбрасывается). При перепроверке идентификации пациента возможны новые ошибки, особенно если она проводится через пациента (т.е. «Брали ли у вас кровь? На какие анализы? Кто брал?»). Это недопустимо, так как наносит пациенту

психологическую травму и подрывает его доверие к данному лечебному учреждению.

4. Правильно ли выбран антикоагулянт? Консервант? Достаточно ли взято крови?

5. Соблюдены ли временные параметры при взятии проб: вовремя ли они взяты? Время наложения жгута превышало 2 мин?

6. Наличие гемолиза в пробе крови при визуальной оценке после центрифугирования. В случае выявления гемолиза необходимо информировать об этом лечащего врача для решения вопроса о повторном взятии проб крови. В направлении медицинская сестра должна указать наличие гемолиза в пробе и решение лечащего врача.

*Продолжение читайте в следующем номере (№ 1, 2015) «Современной лабораторной диагностики»  
Источник: [www.labmedicina.ru](http://www.labmedicina.ru)*