

# ТЕХНОЛОГИИ ОТБОРА АУТОПСИЙНОЙ КРОВИ ДЛЯ СУДЕБНО-БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

А. Ж. Гильманов<sup>1</sup>, В. А. Сашков<sup>2</sup>, В. А. Павлюшина<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

<sup>2</sup> Компания BD (Becton Dickinson), США

<sup>3</sup> ГБУЗ МО «Бюро СМЭ»

**Аннотация:** Статья посвящена вопросу взятия трупной крови для судебно-биохимических исследований. Описаны новые правила забора трупной крови для получения сыворотки и плазмы, пригодной для проведения основных биохимических исследований. Описаны преимущества доставки аутопсийной крови в специальных термопакетах, которые предохраняют материал от замораживания зимой и воздействия высоких температур летом.

**Ключевые слова:** аутопсийная кровь, взятие трупной крови, вакуумные пробирки, лабораторные биохимические исследования

## TECHNOLOGIES OF SELECTION OF AUTOPSY BLOOD FOR FORENSIC BIOCHEMISTRY RESEARCH

Gilmanov A.Zh., Sashkov V. A., Pavlyushina V. A.

**Abstract:** The article is devoted to the collection of cadaveric blood for forensic biochemical research. New rules for sampling cadaveric blood for obtaining serum and plasma, suitable for basic biochemical research, are described. Advantages of delivery of autopsy blood in special thermo-packets that protect the material from freezing in winter and exposure to high temperatures in summer are described.

**Key words:** autopsy blood, cadaveric blood collection, vacuum test tubes, laboratory biochemical studies

<http://dx.doi.org/10.19048/2411-8729-2017-3-2-47-49>

Основными документами, регламентирующими деятельность судебно-медицинских экспертных учреждений, в частности их лабораторных подразделений, являются Федеральный закон от 31.05.2001 № 73-ФЗ «О государственной судебно-экспертной деятельности в Российской Федерации» и Приказ Минздравсоцразвития РФ от 12.05.2010 № 346н «Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации». В них указаны особенности порядка производства экспертиз, в том числе судебной биохимической, обозначены условия взятия крови у трупов (сухим шприцем из бедренной вены в стерильную склянку, например из-под пенициллина и др., которую заполняют доверху). Кровь из трупа необходимо брать не позднее первых 24 часов после наступления смерти и направлять сразу же на биохимическое исследование. В случае невозможности направить кровь на анализ сразу после ее взятия кровь можно хранить в холодильнике при температуре 4–8 °С в течение 10 суток (биохимические показатели стабильны при хранении крови в холодильнике в герметически закупоренной посуде).

В Правилах ведения преаналитического этапа (ч. 4 Национального стандарта Российской Федерации) [1] указано:

- венозная кровь является лучшим материалом для определения биохимических показателей;
- в зависимости от вида проводимого исследования кровь собирается в пробирку с соответствующим реагентом (гепарин, цитрат, ЭДТА, активатор свертывания крови и пр.);
- для получения сыворотки кровь собирается в пробирку с активатором свертывания крови;
- для исследования уровня глюкозы кровь собирается в пробирки с ЭДТА и ингибиторами гликолиза (фтористого натрия или йодоацетата);

• при необходимости длительной транспортировки в лабораторию образцы свернувшейся крови, предназначенные для получения сыворотки, должны быть отцентрифугированы на месте взятия.

**Образцы цельной крови пересылке не подлежат,** а сроки хранения образцов крови определяются стабильностью определяемых аналитов (Приложения Б, В, Г ГОСТа Р 53079.4–2008) [1].

Обозначенные выше правила организации лабораторных исследований крови относятся ко всем клиническим лабораторным исследованиям, тогда как в п. 88.3.1 приказа № 346н указано, что при невозможности направить кровь на анализ сразу после ее взятия образец можно хранить в холодильнике при температуре 4–8 °С в течение 10 суток. Однако стабильность разных аналитов неодинакова и во многом определяется условиями хранения пробы. Так, для многих биохимических аналитов сроки стабильности значительно возрастают в замороженной сыворотке и могут составлять от нескольких дней до года.

Следует признать, что биохимические процессы, происходящие в трупной крови после смерти человека, изучены недостаточно. По мнению некоторых исследователей, в первые 24 часа после смерти аутолитических изменений в трупной крови не наблюдается [2]. Другие авторы не исключают отсутствие этих изменений в первые часы после смерти, но указывают на возможность изменения биохимических параметров в трупе с учетом причины смерти и нахождения тела человека после смерти в различных условиях [3]. В свою очередь, биохимические параметры также зависят от условий взятия биоматериала, сроков и условий его хранения до проведения лабораторного исследования.

Современные данные зарубежных публикаций свидетельствуют, что значения биохимических аналитов на момент смерти не всегда соответствуют значениям этих же показателей после смерти. На их стабильность влияет множество изменений, происходящих в период

до и после смерти человека. Но основное влияние оказывают время забора биообъектов и условия хранения и доставки аутопсийного материала на исследование. В связи с этим все более актуальным становится вопрос получения качественной сыворотки или плазмы крови и сохранности ее анализов при взятии, хранении и доставке образцов для исследований.

При этом исследования, в которых кровь используется для изучения биохимических анализов в постмортальном периоде, предполагают ее взятие из бедренной вены, учитывая менее выраженную изменчивость биохимических показателей с течением времени по сравнению с сердечной кровью. Бедренная кровь также позволяет получать результаты лабораторных исследований, наиболее близкие к таковым у живого человека. Это позволяет сравнивать результаты исследований с диапазоном нормальных значений до наступления смерти, так как посмертного диапазона нормальных значений биохимических маркеров не существует [3].

Практический опыт биохимического отделения ГБУЗ МО «Бюро СМЭ» показывает, что получить негемолизированную сыворотку от трупной крови возможно, но не во всех случаях. Пригодна для получения сыворотки, плазмы и дальнейшего биохимического исследования приблизительно каждая 3–4-я аутопсийная проба. Процент отбраковки материала обусловлен не только временем и причинами наступления смерти, но и несоблюдением основных правил преаналитического этапа при взятии, хранении и транспортировке аутопсийных образцов крови.

Именно поэтому для уменьшения числа ошибок преаналитики и получения максимально достоверных результатов биохимических анализов в ГБУЗ МО «Бюро СМЭ» с 2013 года начали использовать вакуумную систему для взятия крови у трупов. Одноразовые вакуумные пробирки стерильны, герметично закрыты крышкой и содержат различные реагенты (или гель) в зависимости от цели исследования. Крышки пробирок для разных лабораторных тестов кодированы цветом, а благодаря вакуумному разрежению, созданному в заводских условиях, в пробирку поступает строго дозированное количество крови.

Например, пробирки с серой крышкой (с ЭДТА и фторидом натрия) предназначены для определения уровня глюкозы, лактата, гликозилированного гемоглобина. Фторид натрия является ингибитором гликолиза, блокирует энзимы и позволяет хранить пробу до 24 часов при температуре до 25 °С или до 48 часов при температуре 4–8 °С.

Применительно к судебной медицине не всегда есть возможность отобрать сыворотку или плазму сразу. Поэтому при заборе крови на определение глюкозы необходимо использовать указанные специальные пробирки с серой крышкой, содержащие ингибитор гликолиза (фторид или оксалат натрия). При заборе крови на исследование глюкозы в пенициллиновый флакон и хранении ее до 10 дней в холодильнике результаты будут достоверны, а именно – значительно занижены.

Серьезной методической ошибкой при определении глюкозы в сыворотке (плазме) является недостаточно быстрое отделение сыворотки (плазмы) от клеток крови, что приводит к занижению уровня глюкозы в исследуемом образце. Необходимость вносить в пробирки для забора крови ингибиторы гликолиза или использовать специализированные пробирки обусловлена неизбежностью больших потерь концентрации глюкозы в исследуемом образце и получению недостоверных результатов.

Возвращаясь к вопросу о возможности определения глюкозы в цельной крови, стоит отметить, что такой способ действительно существует. Однако она не может

храниться дольше, чем несколько часов, после чего в ней начинают происходить различные изменения, затрудняющие корректное проведение анализа. Несоблюдение этих условий может являться причиной ложно заниженных результатов анализа.

Пробирки с активатором свертывания крови и гелем имеют желтую крышку. Они предназначены для более эффективного отделения сгустка крови от сыворотки. В пробирки добавлен гель – специальный материал, предназначенный для образования стойкого барьера между сгустком крови и сывороткой после центрифугирования. Гель специально расположен в пробирке под углом, 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), чтобы при центрифугировании он поднимался над сгустком и располагался между форменными элементами крови и сывороткой. Устойчивый барьер образуется через 5 минут после окончания центрифугирования крови. Учитывая условия взятия крови на трупном материале (при малом количестве крови), допускается использование пробирки с желтыми крышками малого объема (до 2,5 мл). При соблюдении вышеуказанных правил обработки образцов крови в пробирках с активатором свертывания крови и гелем стабильность основных биохимических показателей в сыворотке сохраняется в течение 48 часов при комнатной температуре, а некоторых – более продолжительное время, особенно при условии хранения материала в холодильнике при температуре 4–8 °С [4]. Указанное время стабильности 24–48 часов – это среднее оптимальное значение для всех видов анализов, оно относительно, так как к сохранности каждого исследуемого показателя нужно относиться избирательно, согласно методическим рекомендациям [5].

На базе Красногорского районного судебно-медицинского отделения были проведены совместные исследования по отработке взятия крови от трупа для биохимических исследований. В результате была составлена инструкция по взятию трупной крови и утвержден приказ от 22.02.2013 № 16 «О введении в практику структурных подразделений ГБУЗ МО «Бюро СМЭ» порядка взятия трупной крови из подвздошной или бедренной вены для проведения биохимических исследований» [6]. В соответствии с порядком взятие аутопсийной крови должно производиться следующим образом:

#### *1. Взятие крови из подвздошной вены.*

После вскрытия брюшной полости полость малого таза тщательно осушают при неизменной брюшине:

1) пересекают наружную подвздошную вену на всем протяжении до начала бедренной вены путем поперечного нанесения разреза со стороны брюшины;

2) к разрезу подставляют чистую сухую емкость для взятия крови. При отсутствии самостоятельного тока крови производят легкие поступательно-давящие движения по внутренней поверхности бедра от колена вверх для выдавливания крови из бедренной вены;

3) для переноса крови в вакуумную пробирку используют специальное устройство (трубочка с воронкой, в которой расположена игла для прокалывания крышки пробирки и вакуумного взятия крови). Устройство опускается в емкость с кровью, на обратный конец насаживается вакуумная пробирка. Кровь под воздействием вакуума набирается в пробирку.

#### *II. Взятие крови из бедренной вены.*

При изменениях в брюшной полости (перитонит, опухоли, спайки в этой области) целесообразно про-

известить отдельный разрез в проекции бедренной вены по передне-внутренней поверхности бедра, рассечь вену, кровь из вены собрать в емкость и далее следовать п. 4, приведенному выше.

Образцы крови в пробирках на биохимические исследования после 30 минут стояния в вертикальном положении (в штативе) и образования сгустка должны быть отцентрифугированы со скоростью 1300–2000 G (10 минут, 24 °С) и помещены в холодильник. Для транспортировки и временного хранения термолabile образцов могут быть использованы специальные термопакеты. Их основная задача – препятствовать изменению температуры транспортируемых образцов крови и надежно защищать их от конвекционного и кондукционного теплового/холодового воздействия. Фольгинированный внешний и внутренний слой обеспечивает защиту от солнечного излучения. В условиях высоких температур окружающей среды (например, летом) при транспортировке рекомендуется использование хладоэлементов. Это позволяет сохранить аутопсийный материал и значительно повысить сроки стабильности биохимических аналитов.

#### ◇ ВЫВОДЫ

Изменения биохимических показателей аутопсийной крови определяются не только причиной смерти, чаще – ошибками преаналитического этапа: нарушением времени и техники взятия образцов крови, условий хранения и доставки проб на лабораторные исследования.

Использование вакуумной системы для взятия крови у трупов, контроль сроков и условий доставки образцов на судебно-биохимическое исследование позволяет существенно снизить долю некачественных проб и практически исключить влияние факторов преаналитики на биоматериал *in vitro*.

#### Для корреспонденции

**ГИЛЬМАНОВ Александр Жанович** – д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» • [gilm@yahoo.com](mailto:gilm@yahoo.com)

**САШКОВ Владимир Алексеевич** – к.б.н., доц., компания BD (Becton Dickinson), США • [vladimir\\_sashkov@europe.bd.com](mailto:vladimir_sashkov@europe.bd.com)

**ПАВЛЮШИНА Валентина Александровна** – заведующая судебно-биохимическим отделением ГБУЗ МО «Бюро СМЭ»; 111401, г. Москва, ул. 1-я Владимирская, д. 33, корп. 1 • [pavlyushina@sudmedmo.ru](mailto:pavlyushina@sudmedmo.ru)

■ Конфликт интересов отсутствует.

#### ◇ ЛИТЕРАТУРА

1. Национальный стандарт Российской Федерации. Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа. ГОСТ Р 53079.4–2008.
2. Дежинова Т.А., Краевский Е.В., Попов В.Л., Заславский Г.И., Бабаханян Р.В. Биохимические методы исследования в практике судебно-медицинской экспертизы // Библиотека судебно-медицинского эксперта. – Санкт-Петербург: Изд-во НИИХ СПбГУ. – 2001. – В. 5. – 59 с.
3. Donaldson A.E., Lamont I.L. Estimation of post-mortem interval using biochemical markers. Published online: 29 Apr. 2013. Australian Journal of Forensic Sciences.
4. Долгов В.В., Луговская С.А., Почтарь М.Е. Применение вакуумных систем BD VACUTAINER® для лабораторного анализа. Методические рекомендации. – М.: Российская медицинская академия последилового образования. – 2007. – 32 с.
5. Кишкун А.А., Гильманов А.Ж., Долгих Т.И. Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований крови. Методические рекомендации. – М., 2012. – 75 с.
6. Правила изъятия объектов биологического происхождения для лабораторных исследований в бюро судебно-медицинской экспертизы: сборник локальных нормативных правовых актов ГБУЗ МО «Бюро СМЭ» / [Клевно В.А., Романько Н.А., Зазулин В.А. и др.]; под ред. проф. В. А. Клевно. – М.: ГБУЗ МО «Бюро СМЭ», 2014. – 76 с., ил.