

## **НАБОРЫ И РЕАГЕНТЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕМОСТАЗА**

- Сборник инструкций
- Методические рекомендации по диагностике основных видов нарушения гемостаза

**Тех-D-димер-тест****Назначение**

Набор «Тех-D-димер-тест» предназначен для качественного или полуколичественного определения D-димера в плазме крови человека.

**Тех-D-димер-авто****Назначение**

Набор «Тех-D-димер-авто» предназначен для количественного определения D-димера в плазме крови человека иммунотурбидиметрическим методом при длине волны 500–900 нм.

**Тех-D-димер контроль****Назначение**

Набор контрольных плазм «Тех-D-димер контроль» применяют для проведения контроля качества (Quality Control) набора реагентов для количественного определения D-димера в плазме крови (Тех-D-димер-авто).

**Фирма «Технология-Стандарт»** (Барнаул, Россия) специализируется на изготовлении и поставке реагентов и наборов **для оценки системы гемостаза**.  
Постоянно в ассортименте более 70 наименований продукции собственного производства для работы **на коагулометрах и агрегометрах**, а также для мануального выполнения анализов.

*Представленные в данном издании сведения отражают результаты многолетних изысканий Алтайской школы гематологов, посвященные проблемам диагностики и лечения различных видов нарушений гемостаза.*

## СБОРНИК ИНСТРУКЦИЙ

ООО Фирма «Технология-Стандарт» 656037, г. Барнаул, пр. Калинина, 116/95, а/я 1351;  
факс: (3852) 271-300, телефон: (3852) 229-937, 229-938, 229-939; e-mail: mail@tehnologia-standart.ru;  
www.tehnologia-standart.ru.

Обращаем Ваше внимание на наличие офиса и склада фирмы «Технология-Стандарт» в Москве  
М. "Текстильщики", ул. Шосейная д.1, корп.1;  
телефон/факс: (495) 730-18-09, (495) 730-41-69, (499) 176-85-96;  
e-mail: tech-standart@yandex.ru  
где можно заказать и приобрести весь спектр производимой продукции

### **Особенностями наших наборов и реагентов являются:**

- Широкий спектр продукции для оценки патологии гемостаза;
- Наиболее конкурентоспособные цены при высоком качестве продукции;
- Возможность использования любого набора на протяжении длительного срока;
- Возможность сопровождения продукции справочными руководствами, ориентированными на предлагаемые наборы реагентов (З.С. Баркаган, А.П. Момот. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: «Ньюдиамед АО», 2008; А.П. Момот. Патология Гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – С-Пб.: Формат, 2006 и др.), а также современной (2010 г.) схемой свертывания крови (формат А1).

**Общие параметры коагулограммы****Протромбиновый тест**

748	<u>Техпластин-тест</u> (набор реагентов для определения протромбинового времени на 400-800 опр. (с жидким реагентом)).....	6
735	<u>Техпластин-тест</u> (набор реагентов для определения протромбинового времени на 1000-2000 опр. (с жидким реагентом)).....	10
131	<u>Техпластин-тест</u> (набор реагентов для определения протромбинового времени на 100-200 опр.).....	14
607	<u>Техпластин-тест</u> (набор реагентов для определения протромбинового времени на 100-200 опр. (без контрольной плазмы)).....	17
140	<u>Техпластин-тест</u> (набор реагентов для определения протромбинового времени на 40-80 опр.).....	20
608	<u>Техпластин-тест</u> (набор реагентов для определения протромбинового времени на 40-80 опр. (без контрольной плазмы)).....	23
144	<u>Техпластин-тест (К)</u> (набор реагентов для определения протромбинового времени, протромбинового отношения и МНО в крови на 50 опр.).....	26
638	<u>Тромбопластин с кальцием растворимый</u> (набор реагентов для определения протромбинового времени на 125-250 опр.).....	29
643	<u>Тромбопластин с кальцием растворимый</u> (набор реагентов для определения протромбинового времени на 50-100 опр.).....	33

**Активированное парциальное (частичное) тромбопластиновое время**

731	<u>АПТВ-Эл-тест</u> (набор реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (жидкий соевый АПТВ-Эл-реагент на 100-200 опр.)).....	37
652	<u>АПТВ-Эл-тест</u> (набор реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (жидкий АПТВ-Эл-реагент на 100-200 опр.)).....	40
649	<u>АПТВ-Эл-тест</u> (набор реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (лиофилизированный АПТВ-Эл-реагент на 100-200 опр.)).....	42
001	<u>АПТВ-тест</u> (набор реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени на 500-1000 опр.).....	44
152	<u>АПТВ-тест</u> (набор реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени на 100-200 опр.).....	47

**Конечный этап свертывания**

742	<u>Тромбин</u> (жидкий реагент для исследования системы гемостаза 3-4 ед. NIH/мл).....	50
323	<u>Тромбин</u> (реагент для исследования системы гемостаза 150 ед. NIH).....	53
017	<u>Тромбин</u> (реагент для исследования системы гемостаза 500 ед. NIH).....	55
151	<u>Тромбо-тест</u> (набор реагентов для определения тромбинового времени на 50-100 опр.).....	57
609	<u>Тромбо-тест</u> (набор реагентов для определения тромбинового времени на 50-100 опр. (без контрольной плазмы)).....	59
610	<u>Тромбо-тест</u> (набор реагентов для определения тромбинового времени на 400-800 опр. (без контрольной плазмы)).....	61
640	<u>Тех-Полимер-тест</u> (набор реагентов для определения нарушений конечного этапа свертывания крови на 80-160 опр.).....	64
190	<u>Анцистрон</u> (набор реагентов для определения анцистронового времени).....	67
081	<u>РФМК-тест</u> (набор реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме крови (флаканный вариант)).....	69
007	<u>РФМК-тест</u> (набор реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме крови (планшетный вариант)).....	72

**Концентрация фибриногена**

711	<u>МультиТех-Фибриноген</u> (набор реагентов для определения концентрации фибриногена для <b>полуавтоматических</b> коагулометров на 100-200 опр.).....	75
712	<u>МультиТех-Фибриноген</u> (набор реагентов для определения концентрации фибриногена для <b>автоматических</b> коагулометров на 100-200 опр.).....	77
714	<u>Фибриноген – калибратор</u> (набор реагентов для определения концентрации фибриногена набором реагентов «МультиТех-Фибриноген»).....	79
094	<u>Тех-Фибриноген-тест</u> (набор реагентов для определения концентрации фибриногена в плазме крови на 100-200 опр.).....	81
324	<u>Тех-Фибриноген-тест</u> (набор реагентов для определения концентрации фибриногена в плазме крови на 30-60 опр.).....	84
225	<u>Тех-Фибриноген-тест</u> (набор реагентов для определения концентрации фибриногена на 100-200 опр., без контрольной плазмы).....	87

**Физиологические антикоагулянты**

733	<u>ХромоТех-Антитромбин</u> (набор реагентов для определения антитромбина на автоматических коагулометрах, на 250 опр.).....	90
192	<u>ХромоТех-Антитромбин</u> (набор реагентов для определения концентрации антитромбина в плазме крови на 60-300 опр.).....	93
761	<u>ХромоТех-Протеин С</u> (набор реагентов для определения активности протеина С в плазме крови на автоматических коагулометрах или фотометре, на 30-100 опр.).....	96

688	<u>Тех-Антитромбин-тест</u> (набор реагентов для определения активности антитромбина III на 120-240 опр. (принцип U. Abildgaard в модификации А.П. Момота и А.Н. Мамаева)).....	99
164	<u>ПАРУС-тест</u> (набор реагентов для определения нарушений в системе протеина С на 40-80 опр.).....	102
200	<u>Фактор V-PC-тест</u> (набор реагентов для определения резистентности фактора Va к активированному протеину С на 40-80 опр.).....	105
006	<u>Гепарин-тест</u> (набор реагентов для определения тромбин-гепаринового времени свертывания на 10 опр.).....	108
<b>Фибринолиз</b>		
798	<u>Тех-D-Димер-тест</u> (набор реагентов для определения D-димера в плазме крови на 45 опр.).....	111
799	<u>Тех-D-Димер-тест</u> (набор реагентов для определения D-димера в плазме крови на 85 опр.).....	115
800	<u>Тех-D-Димер-тест</u> (набор реагентов для определения D-димера в плазме крови на 130 опр.).....	119
819	<u>Тех-D-димер-авто</u> (набор «Тех-D-димер-авто» предназначен для количественного определения D-димера в плазме крови на 100 опр).....	123
821	<u>Тех-D-димер-авто</u> (набор «Тех-D-димер-авто» предназначен для количественного определения D-димера в плазме крови на 200 опр).....	127
809	<u>Тех-D-димер-авто</u> (набор «Тех-D-димер-авто» предназначен для количественного определения D-димера в плазме крови на 350 опр).....	131
734	<u>ХромоТех-Плазминоген</u> (набор реагентов для определения плазминогена на автоматических коагулометрах, на 300 опр.).....	135
092	<u>ХромоТех-Плазминоген</u> (набор реагентов для определения концентрации плазминогена в плазме крови на 60-300 опр.).....	138
009	<u>Фибринолиз-тест</u> (набор реагентов для исследования XIIa-калликреин-зависимого, спонтанного и индуцированного зуглобулинового фибринолиза на 400 опр.).....	141
<b>Волчаночный антикоагулянт</b>		
193	<u>Экспресс-Люпус-тест</u> (набор реагентов для определения волчаночного антикоагулянта на 50-100 опр.).....	144
011	<u>Люпус-тест</u> (набор реагентов для определения антикоагулянтов волчаночного типа на 200 опр.).....	147
<b>Диагностика гемофилии</b>		
274	<u>Тех-Фактор VIII-тест</u> (набор реагентов для определения активности фактора VIII в плазме крови).....	151
014	<u>Дефицитная по фактору VIII плазма</u> .....	154
679	<u>Тех-Фактор IX-тест</u> (активности фактора IX в плазме крови).....	155
270	<u>Дефицитная по фактору IX плазма</u> .....	158
<b>Индукторы агрегации тромбоцитов</b>		
743	<u>Арахидоновая кислота</u> (реагент для исследования агрегации тромбоцитов).....	159
030	<u>АДФ</u> (набор реагентов для определения АДФ-агрегации тромбоцитов).....	161
031	<u>Адреналин</u> (набор реагентов для определения адреналин-агрегации тромбоцитов).....	163
095	<u>Коллаген</u> (набор реагентов для определения коллаген-агрегации тромбоцитов).....	165
197	<u>Ристомин</u> (набор реагентов для определения ристомин-агрегации тромбоцитов).....	167
010	<u>Агрескрин-тест</u> (набор реагентов на 500 опр.).....	169
<b>Плазмы для выполнения калибровки и проведения внутрилабораторного контроля качества (QC)</b>		
774	<u>Техноклот Н</u> (контрольная плазма с нормальным диапазоном значений).....	172
775	<u>Техноклот П</u> (контрольная плазма с патологическим диапазоном значений).....	174
776	<u>Тех-Контроль Н</u> (контрольная плазма с нормальным диапазоном значений).....	176
777	<u>Тех-Контроль П</u> (контрольная плазма с патологическим диапазоном значений).....	178
773	<u>Мультитех-калибратор</u> (калибровочная плазма).....	180
813	<u>Тех-D-димер контроль</u> (набор контрольных плазм для количественного определения D-димера в плазме крови).....	182
<b>Отдельные реагенты</b>		
027	<u>Буфер трис-НСI</u> .....	185
343	<u>Буфер трис-НСI с гепарином</u> .....	187
024	<u>Гепасорб</u> (набор сорбентов для оценки гемостаза в гепаринизированной плазме крови).....	189
022	<u>Кальция хлорид</u> (реагент для исследования гемостаза).....	191
021	<u>Каолин</u> (набор реагентов для исследования гемостаза).....	192
020	<u>Кефалин</u> (реагент для исследования гемостаза).....	194
018	<u>Лебетокс</u> (на 100 опр.).....	196
132	<u>Тромбоциты человека</u> (для диагностики болезни Виллебранда).....	198
028	<u>Цитрат натрия</u> (реагент для стабилизации крови при исследовании гемостаза).....	199
<b>Диагностика основных видов нарушений гемостаза наборами и реагентами фирмы «Технология-Стандарт» (схемы)</b> .....		
<b>Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики нарушений гемостаза.</b> .....		

# ТЕХПЛАСТИН-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения протромбинового времени. (на 400–800 определений)

748

Каталожный  
номер набораТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) предназначен для оценки протромбинового времени свертывания на разных коагулометрах, в том числе автоматических, или вручную. Определение протромбинового времени используется при контроле за лечением антикоагулянтами непрямого действия, а также для выявления дисфункции внешнего пути коагуляции.

Набор предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении протромбинового времени – времени образования фибрина в плазме крови в присутствии ионов кальция и тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика).

### Состав набора:

**Техпластин** (тромбопластин-кальциевая смесь), 10 мл – 4 фл.

**Международный индекс чувствительности (МИЧ)** указан в паспорте к набору.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени не более 10 %.

Допустимое отклонение протромбинового времени от аттестованного значения не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не более 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны и проверены на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- коагулометр (при отсутствии коагулометра – секундомер, водяная баня на +37 °С, пробирки стеклянные);
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,05–0,2, 0,1–1,0 мл;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- плазма-калибратор («Мультитех-калибратор» кат. № 773, производитель ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2–3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2–3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200–1600 г в течение

15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование — сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Подготовка Техпластина

Техпластин в составе набора находится в жидком состоянии и готов к использованию.

Перед проведением исследования один из флаконов с Техпластином необходимо встряхнуть и прогреть при температуре +37 °C не менее 10 мин.

#### 1.2. Получение плазмы-калибратора

Плазма-калибратор в состав набора не входит. Для получения калибровочных значений протромбинового времени пригоден один из двух, представленных ниже вариантов:

**Вариант 1.** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равных пропорциях.

**Вариант 2.** Во флакон с «Мультитех-калибратором» (кат. № 773) внести 1,0 мл дистиллированной воды растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин.

### 2. Проведение анализа

#### Определение протромбинового времени в плазме-калибраторе.

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл плазмы-калибратора.
2. Инкубировать при температуре +37 °C в течение 1 мин.
3. Добавить 0,2 мл раствора Техпластина, имеющего температуру +37 °C и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

Аналогично определить протромбиновое время в образцах плазмы пациентов.

Число определений может отличаться для разных конструкций коагулометров.

### 3. Чтение результатов.

Результат выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают протромбиновое время (ПВ) в секундах у пациента с указанием значений, полученных при исследовании плазмы-калибратора.

В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет **12-18 с**, при мануальной технике определения — **13-19 с**.

2. Рассчитывают протромбиновое отношение (ПО) по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ \text{ пациента}}{ПВ \text{ плазмы-калибратора}}$$

В норме ПО составляет **0,9–1,3**.

3. Определяют протромбиновый показатель по Квику (см. раздел «Определение протромбинового показателя по Квику»). В норме протромбиновый показатель по Квику при использовании Техпластина — более **60 %**.
4. При контроле за непрямыми антикоагулянтами определяют международное нормализованное отношение (МНО), исходя из ПО и международного индекса чувствительности (МИЧ), который указан в паспорте к набору.

Последовательность расчета:

$$А) \quad ПО = \frac{ПВ \text{ пациента}}{ПВ \text{ плазмы-калибратора}}$$

$$Б) \quad МНО = ПО^{МИЧ}$$

**Пример:** ПВ плазмы больного, получающего непрямые антикоагулянты — 45 с; ПВ плазмы-калибратора — 15 с; МИЧ = 1,2.

В этом случае

$$МНО = ПО^{МИЧ} = (45:15)^{1,2} = 3,00^{1,2} = 3,74.$$

Нормальное МНО близко к **1,0**. При лечении антикоагулянтами непрямого действия обычно доводят МНО до 2,0-3,5, в зависимости от клинических показаний. Чем выше МНО, тем значительнее гипокоагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения.

**Таблица пересчёта ПО в МНО представлена в паспорте к набору.**

### 4. Определение протромбинового показателя по Квику

#### 4.1. Принцип. Протромбиновый показатель

по Квику характеризует активность факторов протромбинового комплекса, выраженную в %. Его определяют по калибровочному графику, который строят путем измерения протромбинового времени свертывания в разведениях нормальной плазмы, приготовленной при смешивании 3-5 образцов бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей. Показатель по Квику в такой плазме принимают за 100 %.

Построение калибровочной кривой. Подавляющее большинство коагулометров способно построить калибровочный график и сохранить его в электронной памяти. Однако при мануальной технике выполнения готовят разведения нормальной плазмы в физиологическом (0,9 %) растворе натрия хлорида в соответствии с представленной ниже таблицей.

Таблица

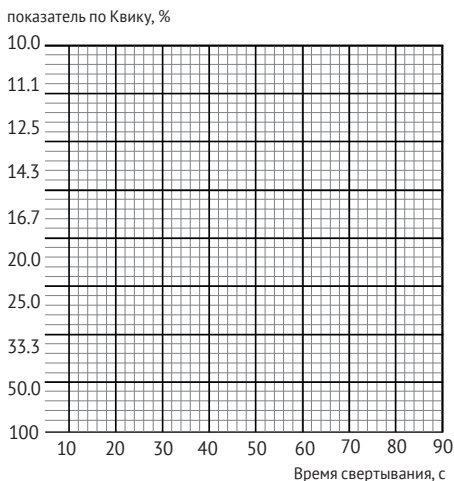
### Приготовление калибровочных разведений контрольной плазмы

№ пробы	Контрольная плазма и ее разведения	+	Физиологический раствор	Разведение	Протромбин нормальной плазмы, %
1	0,25 мл	+	0,0 мл	-	100
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	50
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	25
4	0,25 мл пробы 3	+	0,25 мл	1 + 7	12,5

С каждой пробой (№ 1-4) дважды определяют протромбиновое время, как описано выше (см. раздел «Проведение анализа»). Полученные средние значения (в с) наносят на горизонтальную ось калибровочной сетки. На вертикальную ось этой сетки наносят значения протромбина в разведениях нормальной плазмы (100, 50, 25 и 12,5 %). Через полученные на пересечениях точки проводят калибровочную линию.

Определение протромбинового показателя по Квику. Определяют протромбиновое время в плазме пациента как описано выше (см. раздел «Проведение анализа»). Подавляющее большинство коагулометров способно вычислить протромбиновый показатель по Квику (в %), однако при мануальной технике выполнения его определяют по калибровочному графику.

### Координатная сетка для построения калибровочного графика



### 5. Внутрilaбораторный контроль качества

При осуществлении внутрilaбораторного контроля качества рекомендуется использовать реагент с нормальным диапазоном значений «Техноклот Н» (кат. № 774), а также реагент с патологическим диапазоном значений «Техноклот П» (кат. № 775).

#### Условия хранения и применения

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) рассчитан на исследование **400 образцов** плазмы при использовании автоматических и полуавтоматических коагулометров (при расходе жидкого Техпластина по 0,1 мл на 1 анализ). При использовании ряда автоматических и полуавтоматических коагулометров (при расходе жидкого Техпластина по 0,05 мл на 1 анализ) число определений может быть увеличено до **800**. С другой стороны, при использовании мануальной техники определений и ряда полуавтоматических коагулометров (при расходе жидкого Техпластина по 0,2 мл на 1 анализ) число определений снижается до 200.

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.



Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, а также однократное замораживание.

После вскрытия флакона жидкий Техпластин можно использовать при температуре +37 °С не более суток, комнатной температуре (+18... +25 °С) – не более 7 суток или не более 30 суток – при температуре +2... +8 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Пул свежеполученной плазмы хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 3 ч.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества «Набора реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест)», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: [mail@tehnologia-standart.ru](mailto:mail@tehnologia-standart.ru). <http://www.tehnologia-standart.ru>.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозов антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг). Методические указания. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2003. – 48 с.
3. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени (обзор литературы) // Клинич. лаборат. диагностика. – 1994. - № 6. – С. 23-25.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
5. Eberhard F. Mammen. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами // Лаборатория. – 1997. – № 7. – С. 10-12.
6. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХПЛАСТИН-ТЕСТ

**Инструкция по применению  
набора реагентов для определения  
протромбинового времени  
(на 1000–2000 определений)**



Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Назначение

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) предназначен для оценки протромбинового времени свертывания на разных коагулометрах, в том числе автоматических, или вручную. Определение протромбинового времени используется при контроле за лечением антикоагулянтами непрямого действия, а также для выявления дисфункции внешнего пути коагуляции.

Набор предназначен только для профессионального использования.

## Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении протромбинового времени – времени образования фибрина в плазме крови в присутствии ионов кальция и тромбoplastина (растворимого экстракта из мозга кролика).

### Состав набора:

**Техпластин** (тромбопластин-кальциевая смесь), суспензия 10 мл – 10 фл.

**Международный индекс чувствительности (МИЧ) указан в паспорте к набору.**

## Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени не более 10 %.

Допустимое отклонение протромбинового времени от аттестованного значения не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не более 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

## Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2б (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны и проверены на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## Оборудование, материалы, реагенты

- коагулометр (при отсутствии коагулометра секундомер, водяная баня на +37 °С, пробирки стеклянные);
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,05–0,2, 0,1–1,0 мл;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- плазма-калибратор («Мультитех-калибратор» кат. № 773, производитель ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Подготовка Техпластина

Техпластин в составе набора находится в жидком состоянии и готов к использованию.

Перед проведением исследования один из флаконов с Техпластином необходимо встряхнуть и прогреть при температуре +37 °C не менее 10 мин.

#### 1.2. Получение плазмы-калибратора

Плазма-калибратор в состав набора не входит. Для получения калибровочных значений протромбинового времени пригоден один из двух, представленных ниже вариантов:

**Вариант 1.** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равных пропорциях.

**Вариант 2.** Во флакон с «Мультитех-калибратором» (кат. № 773) внести 1,0 мл дистиллированной воды растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин.

## 2. Проведение анализа Определение протромбинового времени в плазме-калибраторе.

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл плазмы-калибратора.
2. Инкубировать при температуре +37 °C в течение 1 мин.
3. Добавить 0,2 мл раствора Техпластина, имеющего температуру +37 °C и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

Аналогично определить протромбиновое время в образцах плазмы пациентов.

Число определений может отличаться для разных конструкций коагулометров.

## 3. Чтение результатов

Результат выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают протромбиновое время (ПВ) в секундах у пациента с указанием значений, полученных при исследовании плазмы-калибратора. В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет **12-18 с**, при мануальной технике определения – **13-19 с**.
2. Рассчитывают протромбиновое отношение (ПО) по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ \text{ пациента}}{ПВ \text{ плазмы-калибратора}}$$

В норме ПО составляет **0,9-1,3**.

3. Определяют протромбиновый показатель по Квику (см. раздел «Определение протромбинового показателя по Квику»). В норме протромбиновый показатель по Квику при использовании Техпластина – **более 60 %**.
4. При контроле за непрямыми антикоагулянтами определяют международное нормализованное отношение (МНО), исходя из ПО и международного индекса чувствительности (МИЧ), который указан в паспорте к набору. Последовательность расчета:

$$А) \quad ПО = \frac{ПВ \text{ пациента}}{ПВ \text{ плазмы-калибратора}}$$

$$Б) \quad МНО = ПО \cdot МИЧ$$

**Пример:** ПВ плазмы больного, получающего непрямые антикоагулянты – 45 с; ПВ плазмы-калибратора – 15 с; МИЧ = 1,2.

В этом случае  $MNO = PO \text{ МИЧ} = (45:15)^{1,2} = 3,00^{1,2} = 3,74$ .

Нормальное МНО близко к **1,0**. При лечении антикоагулянтами непрямого действия обычно доводят МНО до 2,0-3,5, в зависимости от клинических показаний. Чем выше МНО, тем значительнее гипокоагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения.

**Таблица пересчёта ПО в МНО представлена в паспорте к набору.**

#### 4. Определение протромбинового показателя по Квику

4.1. Принцип. Протромбиновый показатель по Квику характеризует активность факторов протромбинового комплекса, выраженную в %. Его определяют по калибровочному графику, который строят путем измерения протромбинового времени свертывания в разведениях нормальной плазмы, приготовленной при смешивании 3-5 образцов бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей. Показатель по Квику в такой плазме принимают за 100 %.

Построение калибровочной кривой. Подавляющее большинство коагулометров способно построить калибровочный график и сохранить его в электронной памяти. Однако при мануальной технике выполнения готовят разведения нормальной плазмы в физиологическом (0,9 %) растворе натрия хлорида в соответствии с представленной ниже таблицей.

Таблица

#### Приготовление калибровочных разведений контрольной плазмы

Номер пробы	Контрольная плазма и ее разведения	+	Физиологический раствор	Разведение	Протромбин нормальной плазмы, %
1	0,25 мл	+	0,0 мл	–	100
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	50
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	25
4	0,25 мл пробы 3	+	0,25 мл	1 + 7	12,5

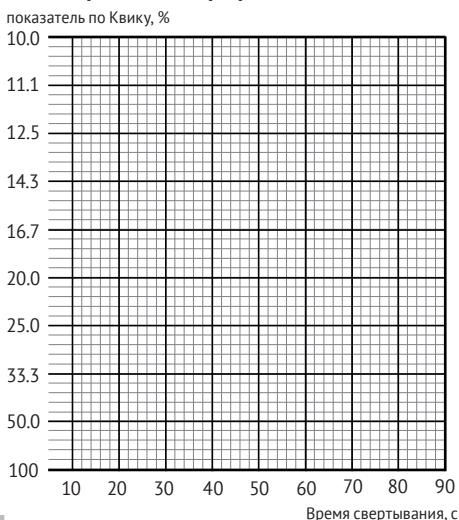
#### Приготовление калибровочных разведений контрольной плазмы

С каждой пробой (№ 1-4) дважды определяют протромбиновое время, как описано выше (см. раздел «Проведение анализа»). Полученные средние значения (в с) наносят

на горизонтальную ось калибровочной сетки. На вертикальную ось этой сетки наносят значения протромбина в разведениях нормальной плазмы (100, 50, 25 и 12,5 %). Через полученные на пересечениях точки проводят калибровочную линию.

Определение протромбинового показателя по Квику. Определяют протромбиновое время в плазме пациента как описано выше (см. раздел «Проведение анализа»). Подавляющее большинство коагулометров способно вычислить протромбиновый показатель по Квику (в %), однако при мануальной технике выполнения его определяют по калибровочному графику.

#### Координатная сетка для построения калибровочного графика



#### 5. Внутрिलाбораторный контроль качества

При осуществлении внутрिलाбораторного контроля качества рекомендуется использовать реагент с нормальным диапазоном значений «Техноклот Н» (кат. № 774), а также реагент с патологическим диапазоном значений «Техноклот П» (кат. № 775).

#### Условия хранения и применения

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) рассчитан на исследование **1000 образцов** плазмы при использовании большинства автоматических и полуавтоматических коагулометров (при расходе жидкого Техпласти-на по 0,1 мл на 1 анализ). При использовании

некоторых коагулометров (при расходе жидкого Техпластина по 0,05 мл на 1 анализ) число определений увеличивается до **2000**.

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, а также однократное замораживание.

После вскрытия флакона жидкий Техпластин можно использовать при температуре +37 °С не более суток, комнатной температуре (+18... +25 °С) — не более 7 суток или не более 30 суток — при температуре +2... +8 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Пул свежеполученной плазмы хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 3 ч.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции

по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества «Набора реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест)», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: [mail@tehnologia-standart.ru](mailto:mail@tehnologia-standart.ru). <http://www.tehnologia-standart.ru>.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. — 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозмболий антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг). Методические указания. — М.: «Ньюдиамед-АО», 2003. — 48 с.
3. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени (обзор литературы) // Клинич. лаборат. диагностика. — 1994. — № 6. — С. 23-25.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. — СПб.: ФормаТ, 2006. — 208 с.
5. Eberhard F. Mammen. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами // Лаборатория. — 1997. — № 7. — С. 10-12.
6. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХПЛАСТИН-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения протромбинового времени (на 100-200 определений)

131

Каталожный  
номер набораТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

**Техпластин-тест** предназначен для оценки протромбинового времени свертывания. Измерение проводят на коагулометре или мануально. Определение протромбинового времени используется для тестирования факторов протромбинового комплекса (II – протромбина, V, VII, X) и контроля за лечением антикоагулянтами непрямого действия.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Тромбопластин (фактор III, тромбокиназа) превращает протромбин плазмы крови в присутствии ионов кальция в активный фермент тромбин, трансформирующий фибриноген плазмы крови в нерастворимый фибрин. Измеряется протромбиновое время – время образования фибрина в плазме крови в присутствии ионов кальция и тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика).

### Состав набора:

1. **Техпластин** (лиофильно высушенная тромбопластин-кальцевая смесь из кроличьего мозга), на 5 мл суспензии – 4 фл.

**Международный индекс чувствительности (МИЧ) указан в Паспорте к набору.**

2. **Контрольная плазма** (лиофильно высушенная контрольная плазма крови человека), на 1 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны. Компоненты набора проверены на содержание вирусов гепатита и ВИЧ.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра – секундомер, термобаня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2, 0,25, 1,0 и 5,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови

и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же

после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### А. Разведение Техпластина

В один флакон с Техпластином внести **5,0 мл** дистиллированной воды. Флакон встряхнуть и выдержать при +37 °С (на водяной бане) в течение 20 мин.

#### Б. Разведение контрольной плазмы

Во флакон с контрольной плазмой внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать 25-30 мин при комнатной температуре. Использовать для получения нормативных данных и контроля активности разведенного Техпластина.

### 2. Проведение анализа

#### Определение контрольных (нормальных) показателей

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл контрольной плазмы.
2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.
3. Добавить 0,2 мл разведенного Техпластина, имеющего температуру +37 °С и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

#### Аналогично определить протромбиновое время в образцах плазмы больных.

В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет **13-18 с**, при мануальной технике определения – **14-19 с**.

#### Чтение результатов. Результат выражают

по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают протромбиновое время (ПВ) в секундах у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.
2. Рассчитывают протромбиновое отношение (ПО) по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ \text{ больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы} \cdot k}$$

*k* – нормализованный коэффициент. Значение *k* указано в Паспорте к набору.

В норме *ПО* составляет **0,9-1,3**.

3. Определяют протромбиновый показатель по Квику (см. Координатная сетка для построения калибровочного графика).

В норме **показатель по Квику** при использовании Техпластина **более 60 %**.

4. При контроле за непрямыми антикоагулянтами определяют международное нормализованное отношение (МНО), исходя из ПО и международного индекса чувствительности (МИЧ), который указан в Паспорте к набору.

#### Последовательность расчета:

$$А) ПО = \frac{ПВ \text{ больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы} \cdot k}$$

$$Б) МНО = ПО^{МИЧ}$$

*Пример:* ПВ плазмы больного, получающего непрямые антикоагулянты – 45 с; ПВ контрольной плазмы – 15 с; МИЧ = 1,2; *k* = 1,0. В этом случае

$$МНО = ПО^{МИЧ} = (45 : (15 \cdot 1,0))^{1,2} = 3,00^{1,2} = 3,74.$$

Нормальное МНО близко к **1,0**. При лечении антикоагулянтами непрямого действия обычно доводят МНО до 2,0-3,5, в зависимости от клинических показаний. Чем выше МНО, тем значительно гипokoагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения.

**Таблица пересчета ПО в МНО представлена в Паспорте к набору.**

## Определение протромбинового показателя по Квику

**Принцип.** Протромбин по Квику характеризует активность факторов протромбинового комплекса, выраженную в %, которую определяют по калибровочному графику.

График строят путем измерения протромбинового времени свертывания в разведениях контрольной нормальной плазмы, приготовленной при смешивании 3-5 образцов бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей. Показатель по Квику в ней принимают за 100 %. Пробы такой плазмы могут храниться в замороженном виде, но размораживаться должны на водяной бане при температуре +37 °С в течение 2-3 мин.<sup>1</sup> Готовят разведения этой плазмы в физиологическом (0,9 %) растворе хлорида натрия в соответствии с приведенной ниже схемой:

<sup>1</sup> Для построения калибровочной кривой может быть использована коммерческая лиофилизированная контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю.



## Приготовление калибровочных разведений контрольной плазмы

№ пробы	Контрольная плазма и ее разведения	+	Физиологический раствор	Разведение	Протромбин нормальной плазмы, %
1	0,25 мл	+	0,0 мл	-	100
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	50
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	25
4	0,25 мл пробы 3	+	0,25 мл	1 + 7	12,5

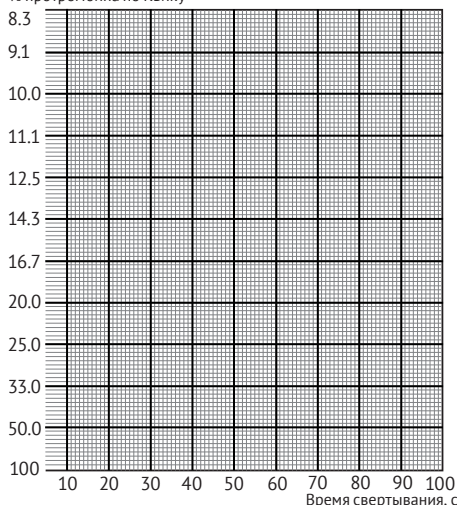
С каждой пробой (№ 1-4) дважды определяют протромбиновое время (в с), как описано выше (см. п. 2. *Проведение анализа*). Полученные средние значения наносят на горизонтальную ось калибровочной сетки. На вертикальную ось этой же сетки наносят значения протромбина в разведениях контрольной плазмы, например, 100, 50, 25 и 12,5 %. Через полученные на пересечения точки проводят калибровочную прямую.

### Определение протромбина по Квику в плазме больного

Определяют протромбиновое время в плазме больного как описано выше (см. п. 2. *Проведение анализа*) и по калибровочному графику значения времени переводят в протромбин по Квику (в %).

### Координатная сетка для построения калибровочного графика

% протромбина по Квику



В норме протромбин по Квику при использовании набора "Техпластин-тест" более **60 %**.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на исследование **200** образцов плазмы при использовании автоматических и полуавтоматических коагулометров. При использовании мануальной техники определений и ряда полуавтоматических коагулометров (при расходе раствора Техпластина по 0,2 мл на 1 анализ) число определений снижается до **100**.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °C в течение 30 сут.

Разведенный Техпластин можно хранить при температуре +37 °C не более 6 ч, комнатной температуре (+18... +25 °C) – не более 48 ч или не более 7 дней – при температуре +2... +8 °C, не замораживать.

Контрольную плазму после разведения можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозмболий антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг): метод. указания. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2003. – 48 с.
3. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени (обзор литературы) // Клинич. лаборат. диагностика. – 1994. – № 6. – С. 23–25.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
5. Eberhard F. Mammen. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами // Лаборатория. – 1997. – № 7. – С. 10–12.



# ТЕХПЛАСТИН-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения протромбинового времени (на 100-200 определений)

607

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

**Техпластин-тест** предназначен для оценки протромбинового времени свертывания. Измерение проводят на коагулометре или мануально. Определение протромбинового времени используется для тестирования факторов протромбинового комплекса (II - протромбина, V, VII, X) и контроля за лечением антикоагулянтами непрямого действия.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Тромбопластин (фактор III, тромбокиназа) превращает протромбин плазмы крови в присутствии ионов кальция в активный фермент тромбин, трансформирующий фибриноген плазмы крови в нерастворимый фибрин. Измеряется протромбиновое время – время образования фибрина в плазме крови в присутствии ионов кальция и тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика).

### Состав набора:

**Техпластин** (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга), на 5 мл суспензии – 4 фл.

**Международный индекс чувствительности (МИЧ) указан в Паспорте к набору.**

Контрольная плазма в состав набора данной комплектации не входит. Для получения контрольных значений протромбинового времени свертывания следует использовать пул бедной тромбоцитами плазмы, полученной от 3-5 практически здоровых людей.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, термобаня на +37 °C);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2, 0,25 и 5,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается

анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе А. Разведение Техпластина

В один флакон с Техпластином внести 5,0 мл дистиллированной воды. Флакон встряхнуть и выдержать при +37 °С (на водяной бане) в течение 20 мин.

### Б. Получение контрольной плазмы

**Вариант 1:** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. выше раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равной пропорции.

**Вариант 2:** Может быть также использована коммерческая контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю.

Контрольную плазму использовать для получения нормативных данных и контроля активности разведённого Техпластина.

### 2. Проведение анализа Определение контрольных (нормальных) показателей

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл контрольной плазмы.

2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

3. Добавить 0,2 мл разведенного Техпластина, имеющего температуру +37 °С и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

### Аналогично определить протромбиновое время в образцах плазмы больных.

В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет **13-18 с**, при мануальной технике определения – **14-19 с**.

**Чтение результатов.** Результат выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают *протромбиновое время (ПВ)* в секундах у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.

2. Рассчитывают *протромбиновое отношение (ПО)* по формуле: **ПВ больного**

$$ПО = \frac{\text{ПВ больного}}{\text{ПВ контрольной плазмы}}$$

В норме **ПО** составляет **0,9-1,3**.

3. Определяют протромбиновый показатель по Квику (см. *Координатная сетка для построения калибровочного графика*).

В норме **показатель по Квику** при использовании Техпластина более **60 %**.

4. При контроле за непрямыми антикоагулянтами определяют *международное нормализованное отношение (МНО)*, исходя из **ПО** и *международного индекса чувствительности (МИЧ)*, который **указан в Паспорте к набору**.

**Последовательность расчета:**

$$А) ПО = \frac{\text{ПВ больного}}{\text{ПВ контрольной плазмы}}$$

$$Б) МНО = ПО^{МИЧ}$$

**Пример:** ПВ плазмы больного, получающего непрямые антикоагулянты – 45 с; ПВ контрольной плазмы – 15 с; МИЧ = 1,2; k = 1,0. В этом случае

$$МНО = ПО^{МИЧ} = (45:(15 \times 1,0))^{1,2} = 3,00^{1,2} = 3,74.$$

Нормальное МНО близко к **1,0**.

При лечении антикоагулянтами непрямого действия обычно доводят МНО до 2,0-3,5, в зависимости от клинических показаний. Чем выше МНО, тем значительнее полученная гипокоагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения.

**Таблица пересчёта ПО в МНО представлена в Паспорте к набору.**

## Определение протромбинового Показателя по Квику

**Принцип.** Протромбин по Квику характеризует активность факторов протромбинового комплекса, выраженную в %, которую определяют по калибровочному графику.

График строят путем измерения протромбинового времени свертывания в разведениях контрольной нормальной плазмы, приготовленной при смешивании 3-5 образцов бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей. Показатель по Квику в ней принимают за 100 %. Пробы такой плазмы могут храниться в замороженном виде, но размораживаться должны на водяной бане при температуре +37 °С в течение 2-3 мин.<sup>1</sup>

Готовят разведения этой плазмы в физиологическом (0,9 %) растворе хлорида натрия в соответствии с приведенной ниже схемой:

<sup>1</sup> Для построения калибровочной кривой может быть использована коммерческая лиофилированная контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю.

## Приготовление калибровочных разведений контрольной плазмы

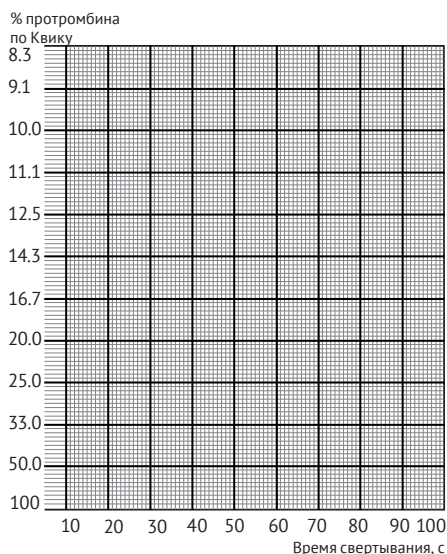
№ пробы	Контрольная плазма и ее разведение	+	Физиологический раствор	Разведение	Протромбин нормальной плазмы, %
1	0,25 мл	+	0,0 мл	-	100
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	50
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	25
4	0,25 мл пробы 3	+	0,25 мл	1 + 7	12,5

С каждой пробой (№ 1-4) дважды определяют протромбиновое время (в с), как описано выше (см. п. 2. *Проведение анализа*). Полученные средние значения наносят на горизонтальную ось калибровочной сетки. На вертикальную ось этой же сетки наносят значения протромбина в разведениях контрольной плазмы, например, 100, 50, 25 и 12,5 %. Через полученные на пересечениях точки проводят калибровочную прямую.

### Определение протромбина по Квику в плазме больного

Определяют протромбиновое время в плазме больного как описано выше (см. п. 2. *Проведение анализа*) и по калибровочному графику значения времени переводят в протромбин по Квику (в %).

### Координатная сетка для построения калибровочного графика



В норме протромбин по Квику при использовании набора "Техпластин-тест" более **60 %**.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на исследование **200** образцов плазмы при использовании автоматических и полуавтоматических коагулометров. При использовании мануальной техники определений и ряда полуавтоматических коагулометров (при расходе раствора Техпластина по 0,2 мл на 1 анализ) число определений снижается до **100**.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °C в течение 30 сут.

Разведенный Техпластин можно хранить при температуре +37 °C не более 6 ч, комнатной температуре (+18... +25 °C) – не более 48 ч или не более 7 дней – при температуре +2... +8 °C, не замораживать. Контрольную свежеполученную плазму можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозмболий антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг). Методические указания. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2003. – 48 с.
3. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени (обзор литературы) // Клинич. лаборат. диагностика. – 1994. – № 6. – С. 23-25.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
5. Eberhard F. Mammen. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами // Лаборатория. – 1997. – № 7. – С. 10-12.

# ТЕХПЛАСТИН-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения протромбинового времени (на 40-80 определений)

### Назначение

**Техпластин-тест** предназначен для оценки протромбинового времени свертывания. Измерение проводят на коагулометре или вручную. Определение протромбинового времени используется для тестирования факторов протромбинового комплекса (II - протромбина, V, VII, X) и контроля за лечением антикоагулянтами непрямого действия.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Тромбопластин (фактор III, тромбокиназа) превращает протромбин плазмы крови в присутствии ионов кальция в активный фермент тромбин, трансформирующий фибриноген плазмы крови в нерастворимый фибрин. Измеряется протромбиновое время – время образования фибрина в плазме крови в присутствии ионов кальция и тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика).

### Состав набора:

1. **Техпластин** (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга), на 2 мл суспензии – 4 фл.

**Международный индекс чувствительности (МИЧ)** указан в Паспорте к набору.

2. **Контрольная плазма** (лиофильно высушенная контрольная плазма крови человека), на 1 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

**140**

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны. Компоненты набора проверены на содержание вирусов гепатита и ВИЧ.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, термобаня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2, 0,25, 1,0 и 2,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### А. Разведение Техпластина

В один флакон с Техпластином внести 2,0 мл дистиллированной воды. Флакон встряхнуть и выдержать при +37 °С (на водяной бане) в течение 20 мин.

#### Б. Разведение контрольной плазмы

Во флакон с контрольной плазмой внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18...+25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать 25-30 мин при комнатной температуре. Использовать для получения нормативных данных и контроля активности разведенного Техпластина.

### 2. Проведение анализа

#### Определение контрольных (нормальных) показателей

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл контрольной плазмы.

2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

3. Добавить 0,2 мл разведенного Техпластина, имеющего температуру +37 °С и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

#### Аналогично определить протромбиновое время в образцах плазмы больных.

В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет 13-18 с, при мануальной технике определения – 14-19 с.

**Чтение результатов.** Результат выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают *протромбиновое время (ПВ)* в секундах у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.

2. Рассчитывают *протромбиновое отношение (ПО)* по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ \text{ больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы} \times k}$$

*k* – нормализованный коэффициент.

Значение *k* указано в паспорте к набору.

В норме *ПО* составляет 0,9-1,3.

3. Определяют протромбиновый показатель по Квику (см. Координатная сетка для построения калибровочного графика).

В норме **показатель по Квику** при использовании Техпластина более 60 %.

4. При контроле за непрямыми антикоагулянтами определяют *международное нормализованное отношение (МНО)*, исходя из *ПО* и *международного индекса чувствительности (МИЧ)*, который **указан в Паспорте к набору.**

**Последовательность расчета:**

$$А) ПО = \frac{ПВ \text{ больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы} \times k}$$

$$Б) МНО = ПО^{МИЧ}$$

**Пример:** ПВ плазмы больного, получающего непрямые антикоагулянты – 45 с; ПВ контрольной плазмы – 15 с; МИЧ = 1,2; *k* = 1,0. В этом случае

$$МНО = ПО^{МИЧ} = (45 : (15 \times 1,0))^{1,2} = 3,00^{1,2} = 3,74.$$

Нормальное МНО близко к 1,0. При лечении антикоагулянтами непрямого действия обычно доводят МНО до 2,0-3,5, в зависимости от клинических показаний. Чем выше МНО, тем значительнее гипокоагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения.

**Таблица пересчёта ПО в МНО представлена в Паспорте к набору.**

## Определение протромбинового Показателя по Квику

**Принцип.** Протромбин по Квику характеризует активность факторов протромбинового комплекса, выраженную в %, которую определяют по калибровочному графику.

График строят путем измерения протромбинового времени свертывания в разведениях контрольной нормальной плазмы, приготовленной при смешивании 3-5 образцов бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей. Показатель по Квику в ней принимают за 100 %. Пробы такой плазмы могут храниться в замороженном виде, но размораживаться должны на водяной бане при температуре +37 °С в течение 2-3 мин.<sup>1</sup> Готовят разведения этой плазмы в физиологическом (0,9 %) растворе хлорида натрия в соответствии с приведенной ниже схемой:

<sup>1</sup> Для построения калибровочной кривой может быть использована коммерческая лиофилизированная контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю.

## Приготовление калибровочных разведений контрольной плазмы

№ пробы	Контрольная плазма и ее разведения	+	Физиологический раствор	Разведение	Протромбин нормальной плазмы, %
1	0,25 мл	+	0,0 мл	-	100
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	50
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	25
4	0,25 мл пробы 3	+	0,25 мл	1 + 7	12,5

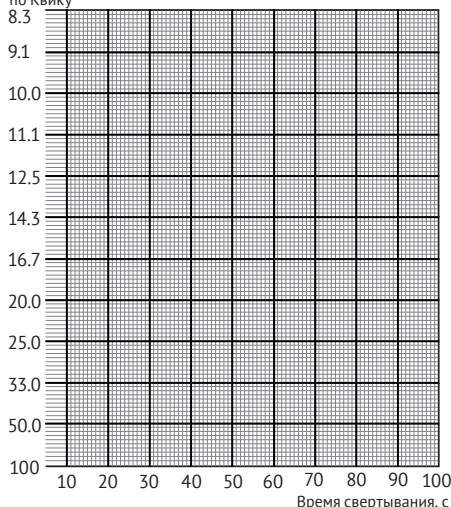
С каждой пробой (№ 1-4) дважды определяют протромбиновое время (в с), как описано выше (см. п. 2. Проведение анализа). Полученные средние значения наносят на горизонтальную ось калибровочной сетки. На вертикальную ось этой же сетки наносят значения протромбина в разведениях контрольной плазмы, например, 100, 50, 25 и 12,5 %. Через полученные на пересечениях точки проводят калибровочную прямую.

### Определение протромбина по Квику в плазме больного

Определяют протромбиновое время в плазме больного как описано выше (см. п.2. Проведение анализа) и по калибровочному графику значения времени переводят в протромбин по Квику (в %).

### Координатная сетка для построения калибровочного графика

% протромбина по Квику



В норме протромбин по Квику при использовании набора "Техпластин-тест" более 60 %.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на исследование 80 образцов плазмы при использовании автоматических и полуавтоматических коагулометров. При использовании ручной техники определений и ряда полуавтоматических коагулометров (при расходе раствора Техпластина по 0,2 мл на 1 анализ) число определений снижается до 40.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (12 мес). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Разведенный Техпластин можно хранить при температуре +37 °С не более 6 ч, комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 48 ч или не более 7 дней при температуре +2... +8 °С, не замораживать. Контрольную плазму после разведения можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозом болей антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг). Методические указания. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2003. – 48 с.
3. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени (обзор литературы) // Клинич. лаборат. диагностика. – 1994. – № 6. – С. 23-25.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
5. Eberhard F. Mammen. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами // Лаборатория. – 1997. – № 7. – С. 10-12.

# ТЕХПЛАСТИН-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения протромбинового времени (на 40-80 определений)

### Назначение

**Техпластин-тест** предназначен для оценки протромбинового времени свертывания. Измерение проводят на коагулометре или мануально. Определение протромбинового времени используется для тестирования факторов протромбинового комплекса (II - протромбина, V, VII, X) и контроля за лечением антикоагулянтами непрямого действия.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Тромбопластин (фактор III, тромбокиназа) превращает протромбин плазмы крови в присутствии ионов кальция в активный фермент тромбин, трансформирующий фибриноген плазмы крови в нерастворимый фибрин. Измеряется протромбиновое время – время образования фибрина в плазме крови в присутствии ионов кальция и тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика).

### Состав набора:

**Техпластин** (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга), на 2 мл суспензии – 4 фл.

**Международный индекс чувствительности (МИЧ) указан в Паспорте к набору.**

Контрольная плазма в состав набора данной комплектации не входит. Для получения контрольных значений протромбинового времени свертывания следует использовать пул бедной тромбоцитами плазмы, полученной от 3-5 практически здоровых людей.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени не превышает 10%.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10%.

608

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, термобаня на +37 °C);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2, 0,25 и 2,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается



анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### А. Разведение Техпластина

В один флакон с Техпластином внести **2,0 мл** дистиллированной воды. Флакон встряхнуть и выдержать при  $+37^{\circ}\text{C}$  (на водяной бане) в течение 20 мин.

#### Б. Получение контрольной плазмы

**Вариант 1:** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. выше раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равной пропорции.

**Вариант 2:** Может быть также использована коммерческая контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю.

Контрольную плазму использовать для получения нормативных данных и контроля активности разведённого Техпластина.

### 2. Проведение анализа

#### Определение контрольных (нормальных) показателей

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл контрольной плазмы.

2. Инкубировать при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 1 мин.

3. Добавить 0,2 мл разведенного Техпластина, имеющего температуру  $+37^{\circ}\text{C}$  и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

#### Аналогично определить протромбиновое время в образцах плазмы больных.

В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет **13-18 с**, при мануальной технике определения – **14-19 с**.

**Чтение результатов.** Результат выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают *протромбиновое время (ПВ)* в секундах у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.

2. Рассчитывают *протромбиновое отношение (ПО)* по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ \text{ больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы}}$$

В норме **ПО** составляет **0,9-1,3**.

3. Определяют протромбиновый показатель по Квику (см. Координатная сетка для построения калибровочного графика).

В норме **показатель по Квику** при использовании Техпластина более **60 %**.

4. При контроле за непрямыми антикоагулянтами определяют *международное нормализованное отношение (МНО)*, исходя из **ПО** и *международного индекса чувствительности (МИЧ)*, который **указан в Паспорте к набору**.

**Последовательность расчета:**

$$А) ПО = \frac{ПВ \text{ больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы}}$$

$$Б) МНО = ПО^{МИЧ}$$

**Пример:** ПВ плазмы больного, получающего непрямые антикоагулянты – 45 с; ПВ контрольной плазмы – 15 с; МИЧ = 1,2;  $k = 1,0$ . В этом случае  $МНО = ПО^{МИЧ} = (45:(15 \times 1,0))^{1,2} = 3,00^{1,2} = 3,74$ .

Нормальное МНО близко к **1,0**. При лечении антикоагулянтами непрямого действия обычно доводят МНО до 2,0-3,5, в зависимости от клинических показаний. Чем выше МНО, тем значительнее полученная гипокоагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения.

**Таблица пересчёта ПО в МНО представлена в Паспорте к набору.**

## Определение протромбинового показателя по Квику

**Принцип.** Протромбин по Квику характеризует активность факторов протромбинового комплекса, выраженную в %, которую определяют по калибровочному графику.

График строят путем измерения протромбинового времени свертывания в разведениях контрольной нормальной плазмы, приготовленной при смешивании 3-5 образцов бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей. Показатель по Квику в ней принимают за 100 %. Пробы такой плазмы могут храниться в замороженном виде, но размораживаться должны на водяной бане при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 2-3 мин.<sup>1</sup>

Готовят разведения этой плазмы в физиологическом (0,9 %) растворе хлорида натрия в соответствии с приведенной ниже схемой:

<sup>1</sup> Для построения калибровочной кривой может быть использована коммерческая лиофилизованная контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю.



## Приготовление калибровочных разведений контрольной плазмы

№ пробы	Контрольная плазма и ее разведения	+	Физиологический раствор	Разведение	Протромбин нормальной плазмы, %
1	0,25 мл	+	0,0 мл	-	100
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	50
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	25
4	0,25 мл пробы 3	+	0,25 мл	1 + 7	12,5

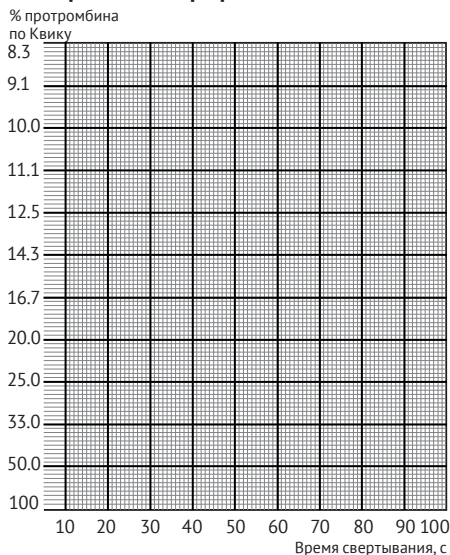
С каждой пробой (№ 1-4) дважды определяют протромбиновое время (в с), как описано выше (см. п. 2. *Проведение анализа*). Полученные средние значения наносят на горизонтальную ось калибровочной сетки. На вертикальную ось этой же сетки наносят значения протромбина в разведениях контрольной плазмы, например, 100, 50, 25 и 12,5 %.

Через полученные на пересечениях точки проводят калибровочную прямую.

### Определение протромбина по Квику в плазме больного

Определяют протромбиновое время в плазме больного как описано выше (см. п. 2. *Проведение анализа*) и по калибровочному графику значения времени переводят в протромбин по Квику (в %).

### Координатная сетка для построения калибровочного графика



В норме протромбин по Квику при использовании набора "Техпластин-тест" более **60 %**.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на исследование **80** образцов плазмы при использовании автоматических и полуавтоматических коагулометров. При использовании мануальной техники определений и ряда полуавтоматических коагулометров (при расходе раствора Техпластина по 0,2 мл на 1 анализ) число определений снижается до **40**.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**12 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Разведенный Техпластин можно хранить при температуре +37 °С не более 6 ч, комнатной температуре (+18... +25 °С) – не более 48 ч или не более 7 дней – при температуре +2... +8 °С, не замораживать. Контрольную свежеполученную плазму можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозмобилий антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг). Методические указания. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2003. – 48 с.
3. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени (обзор литературы) // Клинич. лаборат. диагностика. – 1994. – № 6. – С. 23-25.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
5. Eberhard F. Mammen. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами // Лаборатория. – 1997. – № 7. – С. 10-12.

# ТЕХПЛАСТИН-ТЕСТ (К)

**Инструкция по применению набора реагентов для определения протромбинового времени, протромбинового отношения и МНО в крови**

**144**

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Назначение

**Техпластин-тест (К)** предназначен для малотравматичной и быстрой оценки протромбинового времени свертывания протромбинового отношения и международного нормализованного отношения (МНО) в капиллярной крови. Измерение рекомендуется проводить на коагулометре с механическим принципом регистрации результатов (например, коагулометре «Минилаб 701», фирмы «Юнимед», импортном коагулометре «Тромбостат» фирмы «Behnk Elektronik» или др.). Определение протромбинового времени используется для тестирования факторов протромбинового комплекса (II – протромбина, V, VII, X) и контроля за лечением антикоагулянтами непрямого действия.

## Характеристика набора

**Принцип метода.** Тромбопластин (фактор III, тромбокиназа) превращает протромбин крови в присутствии ионов кальция в активный фермент тромбин, трансформирующий фибриноген крови в нерастворимый фибрин. Измеряется протромбиновое время – время образования фибрина в капиллярной крови в присутствии ионов кальция и тканевого тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика).

## Состав набора:

1. **Техпластин (К)** (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь), на 5 мл суспензии (25 дублированных определений) – 2 фл.
2. **Международный индекс чувствительности (МИЧ)** Техпластина указан в паспорте к набору.
3. **Растворитель для Техпластина (К)**, 10,5 мл – 1 фл.
4. **Контрольная плазма** (лиофильно высушенная плазма крови человека), на 0,8 мл – 1 фл.
5. **Цитрат натрия** (трёхзамещенный, лиофильно высушенный) – на 5 мл, 3,8 % раствора – 2 фл.

5. **Копье-скарификатор** (стерильное) – 50 шт.

## Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени в капиллярной крови не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

## Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

## Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра – секундомер, термобаня на +37 °С, пробирки стеклянные);
- Капилляры Панченкова. Данные капилляры не калиброваны по объему, но ими можно пользоваться для получения необходимого соотношения (9:1) крови с раствором цитрата натрия. При этом общий, маркированный рисками объем капилляра составляет, как правило, от 110 до 150 мкл (или 0,11–0,15 мл);
- Пипетки вместимостью 0,1, 0,2, 1,0 и 5,0 мл;
- Вода дистиллированная;
- Перчатки резиновые хирургические.

## Получение капиллярной крови для исследования

1. Капилляр Панченкова промыть 3,8 % раствором цитрата натрия.

**Для достижения точных результатов рекомендуется использовать входящий в состав данного набора цитрат натрия. Для его разведения в один из флаконов, содержащих сухой реагент, внести 5,0 мл дистиллированной воды. В результате получают 3,8 % раствор, который (для сохранения стабильной концентрации при хранении) разливают по 0,9-1,0 мл в пластиковые или стеклянные флаконы и замораживают при -16...-20 °С на срок до 1 месяца. Перед использованием один из флаконов с 3,8 % раствором цитрата натрия размораживают и хранят в течение 1 дня. Этого флакона достаточно для приготовления до 30 образцов стабилизированной цитратом капиллярной крови. Второй флакон с сухим цитратом натрия используют по мере необходимости.**

2. После обработки спиртом и прокола мякоти пальца скарификатором первую каплю крови удалить ватным тампоном.

3. В капилляр набрать 3,8 % раствор цитрата натрия до деления "80". Затем в тот же капилляр добрать кровь так, чтобы общий объем жидкости достиг деления "0".

4. Полученную смесь перенести в чистую пробирку.

5. В тот же капилляр повторно набрать кровь до деления "0".

6. В пробирке смешать обе порции крови, дополнительно перемешать их пипетированием. При этом получают капиллярную кровь, стабилизированную 3,8 % раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. При значительных изменениях гематокрита (ниже 35 % или выше 55 %) пересчитывают необходимое соотношение объемов крови и стабилизатора (см. Руководство: Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008, с. 292).

7. Калиброванной пипеткой внести по 100 мкл (0,1 мл) стабилизированной крови в две кюветы для коагулометра или в две чистые пробирки (при мануальном определении). До исследования образцы крови хранят при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 30 мин, желательно в герметично закрытом виде.

При получении крови из пальца следует избегать давления на мягкие ткани, поскольку это увеличивает содержание в капиллярной крови тканевой жидкости и влияет на результаты анализа. Не допускается также анализ крови, содержащей избыток цитрата натрия (например, забранной у больного в соотношении 4:1) и полученной более 30 мин назад. В последнем случае объем крови в кювете (или пробирке) уменьшается за счет высыхания.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### А. Разведение Техпластина (К)

В один флакон с Техпластином (К) внести 5,0 мл растворителя для Техпластина (К). Флакон встряхнуть и выдержать при температуре +37 °С (на водяной бане) в течение 20 мин. Перед каждым определением разведенный реагент перемешать, чтобы не было осадка.

#### Б. Разведение контрольной плазмы

Во флакон с контрольной плазмой внести 0,8 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед использованием выдержать 25-30 мин при комнатной температуре. Использовать для получения нормативных данных и контроля активности разведенного Техпластина (К).

#### В. Разведение цитрата натрия

См. п.1. раздела «Получение капиллярной крови для исследования».

### 2. Проведение анализа

#### А. Определение контрольных (нормальных) показателей

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл контрольной плазмы.

2. Инкубировать при температуре +37 °С 1 мин.

3. Добавить 0,2 мл разведенного Техпластина (К), имеющего температуру +37 °С и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина. Определение дублируют, рассчитывают средний результат.

В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет 13-18 с, при мануальной технике определения – 13-19 с.

## Б. Исследование капиллярной крови больных

1. Кювету коагулометра с **0,1 мл** крови больного (или пробирку при мануальном определении) инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

2. Добавить **0,1 мл** разведенного Техпластина (К), имеющего температуру +37 °С и начать отсчет времени свертывания до образования сгустка.

Определение дублируют, рассчитывают средний результат.

**Чтение результатов.** Результат выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают *протромбиновое время (ПВ)* в секундах у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.

2. Рассчитывают *протромбиновое отношение (ПО)* по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ \text{ больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы}}$$

В норме **ПО** составляет **0,9-1,3**.

3. При контроле за непрямыми антикоагулянтами определяют *международное нормализованное отношение (МНО)*, исходя из **ПО** и *международного индекса чувствительности (МИЧ)*, который для данной серии *Тромбопластина* указан в паспорте к набору.

**Последовательность расчета:**

$$А) ПО = \frac{ПВ \text{ больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы}}$$

$$Б) МНО = ПО^{МИЧ}$$

**Пример:** ПВ плазмы больного, получающего не прямые антикоагулянты – 45 с; ПВ контрольной плазмы – 15 с; МИЧ = 1,2. В этом случае

$$МНО = ПО^{МИЧ} = (45:15)^{1,2} = 3,00^{1,2} = 3,74.$$

Нормальное МНО близко к **1,0**. При лечении антикоагулянтами непрямого действия обычно доводят МНО до 2,0-3,5, в зависимости от клинических показаний. Чем выше МНО, тем значительнее полученная гипокоагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения.

**Таблица пересчёта ПО в МНО представлена в Паспорте к набору.**

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **50 определений**. Один флакон с Техпластином(К) рассчитан на 25 анализов капиллярной крови (в дубле) при расходе реагентов по 0,1 мл на 1 анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Разведенный Техпластин (К) можно хранить при температуре +37 °С не более 6 ч, при комнатной температуре (+18... +25 °С) – не более 48 ч или не более 7 дней – при температуре +2... +8 °С, не замораживать.

Возможная ошибка при хранении и применении раствора Техпластина (К): использование на следующий день ранее прогретого при температуре +37 °С реагента. Последнее закономерно приводит к удлинению протромбинового времени свертывания в контроле.

Контрольную плазму после разведения можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

Цитрат натрия после его разведения (или размораживания) можно хранить при комнатной температуре до 1 дня и до 1 месяца в герметично закрытой посуде при -16... -20 °С.

Исследование венозной крови (или полученной из нее плазмы) реагентами данного набора не допускается. В этом случае следует пользоваться набором Техпластин-тест.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбоэмболий антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг); метод. указания. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2003. – 48 с.
3. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени (обзор литературы) // Клинич. лаборат. диагностика. – 1994. – №6. – С 23–25.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Форум, 2006. – 208 с.
5. Eberhard F. Mammen. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами // Лаборатория. – 1997. – № 7. – С. 10–12.

# ТРОМБОПЛАСТИН С КАЛЬЦИЕМ РАСТВОРИМЫЙ

Инструкция по применению реагента  
для определения протромбинового  
времени (на 125-250 определений)

638

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Назначение

Реагент «Тромбопластин с кальцием растворимый» предназначен для оценки протромбинового времени свертывания. Измерение проводят на коагулометре или мануально. Определение протромбинового времени используется для тестирования факторов протромбинового комплекса (II - протромбина, V, VII, X) и контроля за лечением антикоагулянтами непрямого действия. При отсутствии коагулометра Тромбопластин может быть использован для определения уровня фибриногена методом Рутберг.

## Характеристика

**Принцип метода.** Тромбопластин (фактор III, тромбокиназа) превращает протромбин плазмы крови в присутствии ионов кальция в активный фермент тромбин, трансформирующий фибриноген плазмы крови в нерастворимый фибрин. Измеряется протромбиновое время – время образования фибрина в плазме крови в присутствии ионов кальция и тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика).

## Фасовка:

**Тромбопластин** (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга), на 5 мл суспензии (25 определений) – 5 фла.

Для получения контрольных значений протромбинового времени свертывания следует использовать пул бедной тромбоцитами плазмы, полученной от 3-5 практически здоровых людей.

## Аналитические характеристики

Линейность определения протромбинового времени – в диапазоне от 12 до 70 с.

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени не превышает 6 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы крови разными реагентами одной серии не превышает 10 %.

## Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Тромбопластин с кальцием используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

При выполнении коагуляционных тестов следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

## Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, водяная баня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2, 0,25 и 5,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### А. Разведение Тромбопластина

В один из флаконов с Тромбопластином внести **5,0 мл** дистиллированной воды. Флакон встряхнуть и выдержать при  $+37^{\circ}\text{C}$  (на водяной бане или в термостате коагулометра) в течение 20 мин.

#### Б. Получение контрольной плазмы

**Вариант 1:** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. выше раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равной пропорции.

**Вариант 2:** Может быть также использована аттестованная коммерческая контрольная нормальная плазма.<sup>1</sup>

Контрольную плазму использовать для получения нормативных данных и контроля активности разведённого Тромбопластина.

### 2. Проведение анализа

#### Определение контрольных (нормальных) показателей

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл контрольной плазмы.

2. Инкубировать при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 1 мин.

3. Добавить 0,2 мл разведенного Тромбопластина, имеющего температуру  $+37^{\circ}\text{C}$  и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.<sup>2</sup>

#### Аналогично определить протромбиновое время в образцах плазмы больных.

В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет **13-19 с**, при мануальной технике определения – **14-20 с**.

**Чтение результатов.** Результат выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают протромбиновое время (**ПВ**) в секундах у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.

2. Рассчитывают *протромбиновое отношение (ПО)* по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ \text{ больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы}}$$

В норме **ПО** составляет **0,9-1,3**.

3. Рассчитывают *протромбиновый индекс (ПТИ)* в % по формуле:

$$ПТИ = \frac{ПВ \text{ контрольной плазмы}}{ПВ \text{ больного}} \times 100$$

В норме **ПТИ** составляет **90-105 %**.

При контроле за лечением непрямыми антикоагулянтами должен использоваться показатель МНО. У больных, получающих непрямые антикоагулянты, ПТИ составляет 35-60 %, а протромбиновое время увеличивается примерно в 2 раза в сравнении с контрольной нормальной плазмой.

4. Определяют протромбиновый показатель по Квику (см. Координатная сетка для построения калибровочного графика). В норме **показатель по Квику** при использовании Тромбопластина более **60 %**.

## Определение протромбинового показателя по Квику

**Принцип.** Протромбин по Квику характеризует активность факторов протромбинового комплекса, выраженную в %, которую определяют по калибровочному графику.

График строят путем измерения протромбинового времени свертывания в разведениях контрольной нормальной плазмы, приготовленной при смешивании 3-5 образцов бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей. Показатель по Квику в ней принимают за 100 %. Пробы такой плазмы могут храниться в замороженном виде, но размораживаться должны на водяной бане при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 2-3 мин.<sup>3</sup>

Готовят разведения этой плазмы в физиологическом (0,9 %) растворе хлорида натрия в соответствии с приведенной ниже схемой:

<sup>1</sup> «РНП-плазма» производства ООО фирмы «Технология-Стандарт», кат. № 012.

<sup>2</sup> При работе с коагулометром объем смешиваемых жидкостей может быть уменьшен вдвое (см. инструкцию к коагулометру).



## Приготовление калибровочных разведений контрольной плазмы

№ пробы	Контрольная плазма и ее разведения	+	Физиологический раствор	Разведение	Протромбин нормальной плазмы, %
1	0,25 мл	+	0,0 мл	-	100
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	50
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	25
4	0,25 мл пробы 3	+	0,25 мл	1 + 7	12,5

С каждой пробой (№ 1-4) дважды определяют протромбиновое время (в с), как описано выше (см. п. 2. *Проведение анализа*). Полученные средние значения наносят на горизонтальную ось калибровочной сетки. На вертикальную ось этой же сетки наносят значения протромбина в разведениях контрольной плазмы, например, 100, 50, 25 и 12,5 %. Через полученные на пересечениях точки проводят калибровочную прямую.

### Определение протромбина по Квику в плазме больного

Определяют протромбиновое время в плазме больного как описано выше (см. п. 2. *Проведение анализа*) и по калибровочному графику значения времени переводят в протромбин по Квику (в %).

В норме протромбин по Квику при использовании реагента "Тромбопластин с кальцием растворимый" более **60 %**.

При лечении непрямыми антикоагулянтами оптимальный уровень показателя находится в диапазоне **от 20 до 40 %**.

### Определение концентрации фибриногена (по Рутберг)

В случае невозможности в лаборатории определения концентрации фибриногена по Клауссу, Тромбопластин может быть использован для определения концентрации фибриногена по Рутберг. Для выполнения метода дополнительно требуется кальция хлорид (5,54 % раствор).<sup>4</sup>

## Ход определения

1. В пробирке последовательно смешать 1,0 мл исследуемой бедной тромбоцитами плазмы крови, 0,1 мл суспензии Тромбопластина и 0,1 мл 5,54 % раствора кальция хлорида.

2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.

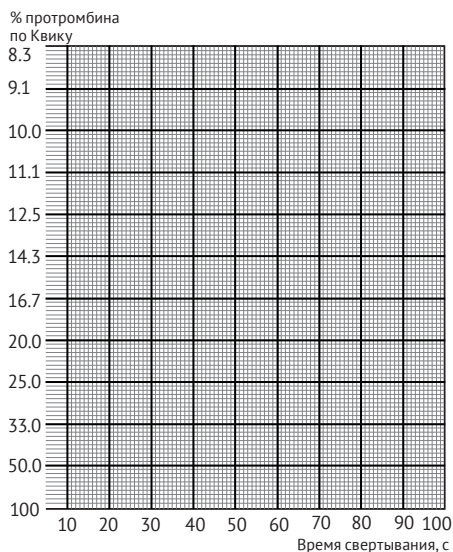
3. Через 10 мин образовавшийся сгусток перенести на фильтровальную бумагу и высушить путем сжатия и перемещения сгустка по фильтру. Высушивание произвести до потери на фильтре следов влаги.

4. Сгусток фибрина выдержать на открытом воздухе при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 15-20 мин и взвесить на торсионных весах.

В норме масса сгустка, полученного из 1 мл плазмы крови, составляет 10-20 мг. Содержание фибриногена в г/л находят при умножении массы сухого фибрина на коэффициент 0,2.

В норме содержание фибриногена в плазме составляет **2,0-4,0 г/л**.

## Координатная сетка для построения калибровочного графика



<sup>3</sup> Для построения калибровочной кривой может быть использована аттестованная коммерческая контрольная нормальная плазма.

<sup>4</sup> «Кальция хлорид» производства ООО фирмы «Технология-Стандарт», кат. № 022.

## Условия хранения и применения

Фасовка реагента рассчитана на проведение **125-250 анализов**. Один флакон с Тромбопластином рассчитан на **25-50 анализов** при расходе реагента по 0,2-0,1 мл на 1 анализ.

Хранение реагента "Тромбопластин с кальцием растворимый" должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Разведенный Тромбопластин можно хранить при температуре +37 °С не более 6 ч, комнатной температуре (+18... +25 °С) – не более 48 ч или не более 7 дней – при температуре +2... +8 °С, не замораживать.

Контрольную свежеполученную плазму можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

## Литература

1. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени (обзор литературы) // Клинич. лаборат. диагностика. – 1994. – № 6. – С. 23-25.
2. Eberhard F. Mammen. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами // Лаборатория. – 1997. – № 7. – С. 10-12.
3. Баркаган Э.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозов антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг). Методические указания. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2003. – 48 с.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
5. Баркаган Э.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.



# ТРОМБОПЛАСТИН С КАЛЬЦИЕМ РАСТВОРИМЫЙ

Инструкция по применению реагента для  
определения протромбинового времени  
(на 50-100 определений)

## Назначение

Реагент «Тромбопластин с кальцием растворимый» предназначен для оценки протромбинового времени свертывания. Измерение проводят на коагулометре или мануально. Определение протромбинового времени используется для тестирования факторов протромбинового комплекса (II – протромбина, V, VII, X) и контроля за лечением антикоагулянтами непрямого действия. При отсутствии коагулометра Тромбопластин может быть использован для определения уровня фибриногена методом Рутберг.

## Характеристика

**Принцип метода.** Тромбопластин (фактор III, тромбокиназа) превращает протромбин плазмы крови в присутствии ионов кальция в активный фермент тромбин, трансформирующий фибриноген плазмы крови в нерастворимый фибрин. Измеряется протромбиновое время – время образования фибрина в плазме крови в присутствии ионов кальция и тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика).

## Фасовка:

**Тромбопластин** (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга), на 2 мл суспензии (10 определений) – 5 фла.

Для получения контрольных значений протромбинового времени свертывания следует использовать пул бедной тромбоцитами плазмы, полученной от 3-5 практически здоровых людей.

## Аналитические характеристики

Линейность определения протромбинового времени – в диапазоне от 12 до 70 с.

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени не превышает 6 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени

643

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

в одной пробе плазмы крови разными реагентами одной серии не превышает 10 %.

## Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Тромбопластин с кальцием используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

При выполнении коагуляционных тестов следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

## Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра – секундомер, водяная баня на +37 °C);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2, 0,25 и 5,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагента к работе

#### А. Разведение Тромбопластина

В один из флаконов с Тромбопластином внести **2,0 мл** дистиллированной воды. Флакон встряхнуть и выдержать при +37 °С (на водяной бане или в термостате коагулометра) в течение 20 мин.

#### Б. Получение контрольной плазмы

**Вариант 1:** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. выше раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равной пропорции.

**Вариант 2:** Может быть также использована аттестованная коммерческая контрольная нормальная плазма<sup>1</sup>.

Контрольную плазму использовать для получения нормативных данных и контроля активности разведённого Тромбопластина.

### 2. Проведение анализа

#### Определение контрольных (нормальных) показателей

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл контрольной плазмы.

2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

3. Добавить 0,2 мл разведенного Тромбопластина, имеющего температуру +37 °С и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.<sup>2</sup>

#### Аналогично определить протромбиновое время в образцах плазмы больных.

В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет **13-19 с**, при мануальной технике определения – **14-20 с**.

**Чтение результатов.** Результаты выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают *протромбиновое время (ПВ)* в секундах у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.

2. Рассчитывают *протромбиновое отношение (ПО)* по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ \text{ больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы}}$$

В норме **ПО** составляет **0,9-1,3**.

3. Рассчитывают *протромбиновый индекс (ПТИ)* в % по формуле:

$$ПТИ = \frac{ПВ \text{ контрольной плазмы}}{ПВ \text{ больного}} \times 100 \%$$

В норме **ПТИ** составляет **90-105 %**.

При контроле за лечением непрямыми антикоагулянтами должен использоваться показатель МНО. У больных, получающих непрямые антикоагулянты, ПТИ составляет 35-60 %, а протромбиновое время увеличивается примерно в 2 раза в сравнении с контрольной нормальной плазмой.

4. Определяют протромбиновый показатель по Квику (см. Координатная сетка для построения калибровочного графика). В норме **показатель по Квику** при использовании Тромбопластина более **60 %**.

## Определение протромбинового показателя по Квику

**Принцип.** Протромбин по Квику характеризует активность факторов протромбинового комплекса, выраженную в %, которую определяют по калибровочному графику.

График строят путем измерения протромбинового времени свертывания в разведениях контрольной нормальной плазмы, приготовленной при смешивании 3-5 образцов бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей. Показатель по Квику в ней принимают за 100 %. Пробы такой плазмы могут храниться в замороженном виде, но размораживаться должны на водяной бане при температуре +37 °С в течение 2-3 мин.<sup>3</sup>

Готовят разведения этой плазмы в физиологическом (0,9 %) растворе хлорида натрия в соответствии с приведенной ниже схемой:

<sup>1</sup> «РНП-плазма» производства ООО фирмы «Технология-Стандарт», кат. № 012.

<sup>2</sup> При работе с коагулометром объем смешиваемых жидкостей может быть уменьшен вдвое (см. инструкцию к коагулометру).

## Приготовление калибровочных разведений контрольной плазмы

№ пробы	Контрольная плазма и ее разведения	+	Физиологический раствор	Разведение	Протромбин нормальной плазмы, %
1	0,25 мл	+	0,0 мл	-	100
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	50
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	25
4	0,25 мл пробы 3	+	0,25 мл	1 + 7	12,5

С каждой пробой (№ 1-4) дважды определяют протромбиновое время (в с), как описано выше (см. п. 2. Проведение анализа). Полученные средние значения наносят на горизонтальную ось калибровочной сетки. На вертикальную ось этой же сетки наносят значения протромбина в разведениях контрольной плазмы, например, 100, 50, 25 и 12,5 %. Через полученные на пересечениях точки проводят калибровочную прямую.

### Определение протромбина по Квику в плазме больного

Определяют протромбиновое время в плазме больного как описано выше (см. п. 2. Проведение анализа) и по калибровочному графику значения времени переводят в протромбин по Квику (в %).

В норме протромбин по Квику при использовании реагента "Тромбопластин с кальцием растворимый" более **60 %**.

### Определение концентрации фибриногена (по Рутберг)

В случае невозможности в лаборатории определения концентрации фибриногена по Клауссу, Тромбопластин может быть использован для определения концентрации фибриногена по Рутберг. Для выполнения метода дополнительно требуется кальция хлорид (5,54 % раствор).<sup>4</sup>

### Ход определения

1. В пробирке последовательно смешать 1,0 мл исследуемой бедной тромбоцитами плазмы крови, 0,1 мл суспензии Тромбопластина и 0,1 мл 5,54 % раствора кальция хлорида.

2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.

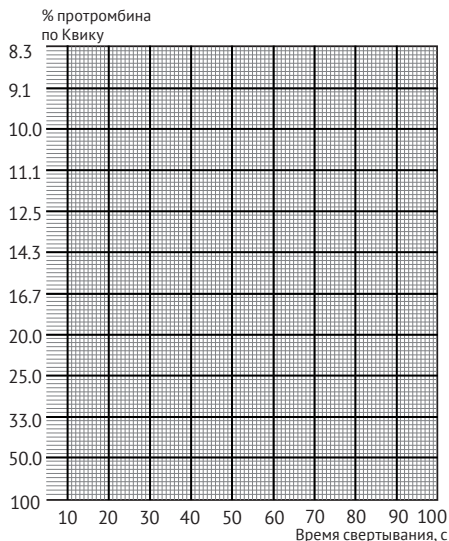
3. Через 10 мин образовавшийся сгусток перенести на фильтровальную бумагу и высушить путем сжатия и перемещения сгустка по фильтру. Высушивание произвести до потери на фильтре следов влаги.

4. Сгусток фибрина выдержать на открытом воздухе при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 15-20 мин и взвесить на торсионных весах.

В норме масса сгустка, полученного из 1 мл плазмы крови, составляет 10-20 мг. Содержание фибриногена в г/л находят при умножении массы сухого фибрина на коэффициент 0,2.

В норме содержание фибриногена в плазме составляет **2,0-4,0 г/л**.

### Координатная сетка для построения калибровочного графика



<sup>3</sup> Для построения калибровочной кривой может быть использована аттестованная коммерческая контрольная нормальная плазма.

<sup>4</sup> «Кальция хлорид» производства ООО фирмы «Технология-Стандарт», кат. № 022.

## Условия хранения и применения

Фасовка реагента рассчитана на проведение **50-100 анализов**. Один флакон с Тромбопластином рассчитан на **10-20 анализов** при расходе реагента по 0,2-0,1 мл на 1 анализ.

Хранение реагента "Тромбопластин с кальцием растворимый" должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Разведенный Тромбопластин можно хранить при температуре +37 °С не более 6 ч, комнатной температуре (+18... +25 °С) - не более 48 ч или не более 7 дней – при температуре +2... +8 °С, не замораживать.

Контрольную свежеполученную плазму можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозмболий антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг). Методические указания. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2003. – 48 с.
3. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени (обзор литературы) // Клинич. лаборат. диагностика. – 1994. – № 6. – С. 23-25.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
5. Eberhard F. Mammen. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами // Лаборатория. – 1997. – № 7. – С. 10-12.

# АПТВ-ЭЛ-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (жидкий соевый АПТВ-Эл-реагент, на 100-200 опр.)

731

Каталожный  
номер набора

Только для  
in vitro  
диагностики

### Назначение

Набор «АПТВ-Эл-тест» предназначен для выполнения базовой методики исследования системы гемостаза — определения активированного парциального (частичного) тромбопластинового времени (АПТВ/АЧТВ). Определение АПТВ используется для оценки внутреннего пути свертывания плазмы крови.

Набор предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Метод основан на оценке времени рекальцификации образца плазмы после его инкубации с реагентом, содержащим активатор внутреннего пути коагуляции и соевые фосфолипиды. В качестве активатора внутреннего пути коагуляции используется эллаговая кислота.

### Состав набора:

1. **АПТВ-Эл-реагент** (раствор, содержащий соевые фосфолипиды, эллаговую кислоту, буфер и стабилизаторы), 5 мл – 2 фл.
2. **Кальция хлорид** (0,025 М раствор), 10 мл – 2 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения АПТВ не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения АПТВ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не более 10 %.

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохра-

нения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения in vitro.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны и проверены на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра — секундомер, водяная баня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,1 мл;
- плазма-калибратор («Мультитех-калибратор» кат. № 773, производитель ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- пробирки стеклянные;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия — 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови,

содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 г в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование — сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, признаки гемолиза и полученной более 2 ч назад, а также подвергавшейся предварительному замораживанию.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Подготовка АПТВ-Эл-реагента и раствора кальция хлорида

Жидкий АПТВ-Эл-реагент и раствор кальция хлорида готовы к использованию.

Перед проведением исследования один из флаконов с жидким АПТВ-Эл-реагентом необходимо встряхнуть, затем выдержать при комнатной температуре (+18... +25 °С) не менее 10 мин. Необходимый для работы объем кальция хлорида следует отлить в отдельный флакон и прогреть на водяной бане или в термостате коагулометра при температуре +37 °С не менее 10 мин.

При длительном хранении на дне флакона с жидким АПТВ-Эл-реагентом возможно образование тонкого слоя осадка бурого или буро-зеленого цвета, что не изменяет свойств реагента. После легкого взбалтывания реагент вновь будет представлять собой гомогенную жидкость светло-желтого цвета с зеленоватым оттенком.

#### 1.2. Получение плазмы-калибратора

Плазма-калибратор в состав набора не входит. Для получения калибровочных значений АПТВ пригоден один из двух, представленных ниже вариантов:

**Вариант 1.** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равных пропорциях.

**Вариант 2.** Во флакон с «Мультитех-калибратором» (кат. № 773) внести 1,0 мл дистилли-

рованной воды растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин.

## 2. Проведение анализа

### Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл исследуемой плазмы и прогреть ее при +37 °С.
2. По истечении 1 мин инкубации в кювету добавить 0,1 мл АПТВ-Эл-реагента, имеющего комнатную температуру (+18... +25 °С).
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

### Мануальный вариант:

1. В пробирку внести 0,1 мл исследуемой плазмы и поместить ее на водяную баню при температуре +37 °С.
2. По истечении 1 мин инкубации в пробирку добавить 0,1 мл АПТВ-Эл-реагента, имеющего комнатную температуру (+18... +25 °С). Пробирку встряхнуть.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и включить секундомер.
4. Достать пробирку из бани и определить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

## 3. Чтение результатов

Нормативные показатели АПТВ зависят от техники определения. При мануальном выполнении теста АПТВ в нормальной плазме составляет **32-44 с**, при коагулометрическом — **30-42 с**, в зависимости от модели коагулометра.

Удлинение времени свертывания возможно при различных заболеваниях и синдромах (коагулопатии, в том числе гемофилии, ДВС-синдром, антифосфолипидный синдром и др.), а также при назначении антикоагулянтов.

## 4. Внутрिलाбораторный контроль качества

При осуществлении внутрिलाбораторного контроля качества рекомендуется использовать реагент с нормальным диапазоном

значений «Техноклот Н» (кат. № 774), а также реагент с патологическим диапазоном значений «Техноклот П» (кат. № 775).

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **100-200 определений** при расходе растворов реагентов по 0,1-0,05 мл на 1 анализ.

Набор необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание не допускается.

Во вскрытом флаконе АПТВ-Эл-реагент должен находиться в течение рабочего дня при комнатной температуре, по окончании которого этот реагент следует хранить при температуре +2... +8 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Такое чередование температурного режима допускается до полного расходования объема АПТВ-Эл-реагента в одном из флаконов на протяжении 30 дней.

Во вскрытом (но герметично закрываемом) флаконе раствор кальция хлорида следует хранить при температуре +2... +8 °С до полного расходования на протяжении 30 дней в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Необходимый (для выполнения исследований на протяжении рабочего дня) объем раствора кальция хлорида следует переносить в отдельную пробирку или флакон, где этот раствор хранят

при температуре +37 °С в течение 8 ч или при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более суток. Не допускается сливание остатков этого раствора (после прогрева) во флакон с кальция хлоридом, хранящимся при температуре +2... +8 °С.

Пул свежеполученной плазмы крови хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 3 ч.

Не следует смешивать рабочие реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «АПТВ-Эл-тест», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: [mail@tehnologia-standart.ru](mailto:mail@tehnologia-standart.ru). <http://www.tehnologia-standart.ru>.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. — 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. — СПб.: Формат, 2006. — 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# АПТВ-ЭЛ-ТЕСТ

по применению набора реагентов  
для определения активированного  
парциального тромбопластинового  
времени (жидкий АПТВ-Эл-реагент,  
на 100-200 опр.)

652

Каталожный  
номер набораТолько для  
*in vitro*  
диагностики

## Назначение

Набор АПТВ-Эл-тест предназначен для выполнения базовой методики исследования системы гемостаза – определения активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ или АЧТВ). Определение АПТВ используется для выявления гипер- и гипокоагуляционного сдвига, контроля за гепаринотерапией при тромбозах, тромбоэмболиях и ДВС-синдромах различной этиологии, для диагностики гемофилии (дефицит факторов VIII, IX, XI), болезни Виллебранда.

## Характеристика набора

**Принцип метода.** Определяется время свертывания плазмы крови в условиях стандартизированной контактной (эллаговой кислотой) и фосфолипидами (кефалином) активации процесса коагуляции в присутствии ионов кальция.

## Состав набора:

1. **АПТВ-Эл-реагент** (раствор, содержащий фосфолипиды мозга кролика, эллаговую кислоту, буфер и стабилизаторы), 5 мл – 2 фл.
2. **Кальция хлорид** (0,277 % раствор), 10 мл – 2 фл.

## Аналитические характеристики набора

Линейность определения – в диапазоне от 20 до 250 с.

Коэффициент вариации результатов определения АПТВ не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения АПТВ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

## Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

## Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра – секундомер, водяная баня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1 мл;
- пробирки стеклянные;
- перчатки резиновые хирургические.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования. Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.



## Приготовление реагентов и проведение анализа

**1. Подготовка реагентов к работе**  
**АПТВ-Эл-реагент и раствор кальция хлорида входят в комплект набора готовыми к применению и не требуют каких-либо разведений.**

Перед проведением исследования один из флаконов с АПТВ-Эл-реагентом необходимо встряхнуть (затем оставить при комнатной температуре (+18... +25 °C), а необходимый для работы объем кальция хлорида следует отлить в отдельный флакон и прогреть на водяной бане или в термостате коагулометра при температуре +37 °C в течение, как минимум, 10 мин.

### 2. Проведение анализа Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл исследуемой плазмы и прогреть ее при +37 °C в течение 1 мин.
2. В кювету добавить 0,1 мл АПТВ-Эл-реагента, имеющего комнатную температуру.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °C) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

### Мануальный вариант:

1. К 0,1 мл исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл АПТВ-Эл-реагента.
2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °C.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °C) и включить секундомер.
4. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

Нормативные показатели АПТВ зависят от техники определения. При мануальном тестировании АПТВ в плазме у здоровых людей составляет **23-39 с**, при коагулометрическом – **22-38 с**. Следует отметить, что представленные выше нормативы являются лишь ориентировочными и могут отличаться вследствие наличия локальных особенностей лаборатории (техника приготовления дистиллированной воды, тип коагулометра, использование разных вакуумных систем для забора крови и мн. др.). Для уточнения нормативных диапазонов необходимо использовать рекомендации,

изложенные в Национальном стандарте РФ «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований» (ГОСТ Р 53022.3-2008).

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **100-200 определений** при расходе растворов реагентов по 0,1-0,05 мл на 1 анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °C в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

АПТВ-Эл-реагент выглядит как однородная, слабо опалесцирующая смесь желто-зеленого цвета. При длительном хранении на дне флакона с АПТВ-Эл-реагентом возможно образование тонкого слоя осадка бурого или буро-зеленого цвета, что не изменяет свойств реагента, после легкого взбалтывания реагент выглядит как прежде, т.е. однородная, слабо опалесцирующая смесь желто-зеленого цвета.

Во вскрытом флаконе АПТВ-Эл-реагент должен находиться в течение рабочего дня при комнатной температуре, по окончании которого этот реагент следует хранить при температуре +2... +8 °C. Такое чередование температурного режима допускается до полного расходования объема АПТВ-Эл-реагента в одном из флаконов на протяжении 30 дней.

Во вскрытом (но герметично закрываемом) флаконе раствор кальция хлорида следует хранить при температуре +2... +8 °C до полного расходования на протяжении 30 дней. Необходимый (для выполнения исследований на протяжении рабочего дня) объем раствора кальция хлорида необходимо перенести в отдельную пробирку или флакон, где этот раствор хранят при температуре +37 °C в течение 4 ч или при комнатной температуре не более 1 дня. Не допускается сливание остатков этого раствора (после прогревания) во флакон с кальция хлоридом, хранящимся при температуре +2... +8 °C.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# АПТВ-ЭЛ-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (лиофилизированный АПТВ-Эл-реагент, на 100-200 опр.)

### Назначение

Набор **АПТВ-Эл-тест** предназначен для выполнения базовой методики исследования системы гемостаза - определения активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ или АЧТВ). Определение АПТВ используется для выявления гипер- и гипокоагуляционного сдвига, контроля за гепаринотерапией при тромбозах, тромбоемболиях и ДВС-синдромах различной этиологии, для диагностики гемофилии (дефицит факторов VIII, IX, XI), болезни Виллебранда.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Определяется время свертывания плазмы крови в условиях стандартизированной контактной (эллаговой кислотой) и фосфолипидами (кефалином) активации процесса коагуляции в присутствии ионов кальция.

### Состав набора:

1. **АПТВ-Эл-реагент** (лиофильно высушенная смесь, содержащая фосфолипиды мозга кролика, эллаговую кислоту, буфер и стабилизаторы), на 2,5 мл – 4 фл.
2. **Кальция хлорид** (концентрированный 20:1 раствор; 0,5 М), 2 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения – в диапазоне от 20 до 250 с.

Коэффициент вариации результатов определения АПТВ не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения АПТВ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

649

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра – секундомер, водяная баня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1, 0,5 и 1,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- цилиндр мерный вместимостью 100 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагентов к работе**

#### **А. Разведение АПТВ-Эл-реагента**

В один флакон с АПТВ-Эл-реагентом внести **2,5 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) в течение 2 мин, после чего для гомогенизации пропипетировать полученную суспензию 10-12 раз без образования пены. Перед использованием разведенный АПТВ-Эл-реагент должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 15 мин.

#### **Б. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида**

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды).

### **2. Проведение анализа**

#### **Коагулометрический вариант:**

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл исследуемой плазмы и прогреть ее при +37 °С в течение 1 мин.
2. В кювету добавить 0,1 мл АПТВ-Эл-реагента, имеющего комнатную температуру.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

#### **Мануальный вариант:**

1. К 0,1 мл исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл АПТВ-Эл-реагента.
2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и включить секундомер.
4. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

Нормативные показатели АПТВ зависят от техники определения. При мануальном тестировании АПТВ в нормальной плазме составляет **23-34 с**, при коагулометрическом – **22-33 с**, в зависимости от типа коагулометра.

## **Условия хранения и применения**

Набор рассчитан на проведение **100-200 определений** при расходе рабочих растворов реагентов по 0,1-0,05 мл на 1 анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Разведенный АПТВ-Эл-реагент можно использовать в течение 6 ч в условиях хранения при комнатной температуре и не более 7 дней – при температуре +2... +8 °С.

Концентрированный раствор кальция хлорида можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2-х месяцев при условии герметизации флакона.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при комнатной температуре не более 1 дня или не более 2 дней при температуре +2... +8 °С. Не допускается сливание остатков этого раствора после дня работы с герметично закрытым и хранящимся при температуре +2... +8 °С раствором.

## **Литература**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

# АПТВ-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (на 500-1000 опр.)

001

Каталожный  
номер набораТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор **АПТВ-тест** предназначен для выполнения базовой методики исследования системы гемостаза – определения активированного парциального (частичного) тромбопластинового времени (АПТВ или АЧТВ). Определение АПТВ используется для выявления гипер- и гипокоагуляционного сдвига, контроля за гепаринотерапией при тромбозах, тромбозмболиях и ДВС-синдромах различной этиологии, для диагностики гемофилии (дефицит факторов VIII, IX, XI), болезни Виллебранда.

Реагенты набора могут использоваться для определения каолинового времени свертывания бедной и богатой тромбоцитами плазмы (активированного времени рекальцификации – АВР).

### Характеристика набора

**Принцип метода АПТВ (АЧТВ).** Определяется время свертывания плазмы крови в условиях стандартизированной контактной (каолином) и фосфолипидной (кефалином) активации процесса в присутствии ионов кальция.

### Состав набора:

1. **Кефалин** (лиофильно высушенный фосфолипидный компонент), на 2 мл – 2 фл.
2. **Каолин** (концентрированная суспензия 200:1 в дистиллированной воде), 1 мл – 1 фл.
3. **Буфер трис-НСl** (концентрированный 20:1 раствор, 1 М), 10 мл – 1 фл.
4. **Кальция хлорид** (концентрированный 20:1 раствор, 0,5 М) – 10 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения АПТВ не превышает 6 %.

Допустимый разброс результатов определения АПТВ в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, водяная баня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1 и 1,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- цилиндр мерный вместимостью 200 мл;
- перчатки резиновые хирургические;
- вода дистиллированная.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 1000 об/мин (240 g) в течение 7 мин. Богатую тромбоцитами плазму переносят в другую пробирку и повторно центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают плазму, бедную тромбоцитами.

Допускается для получения бедной тромбоцитами плазмы однократное центрифугирование крови при 3000–4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

**Примечание:** Бедная тромбоцитами плазма используется для определения АПТВ (АЧТВ) и каолинового времени бедной тромбоцитами плазмы. Богатая тромбоцитами плазма может быть использована для определения каолинового времени в такой плазме (или АБР).

## Приготовление реагентов и определение АПТВ (АЧТВ)

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### А. Разведение кефалина

В один флакон с кефалином внести **2,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и энергичном покачивании в течение 2 мин. В результате получают раствор кефалина, который до использования должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 60 мин.

#### Б. Приготовление АПТВ-реагента

1. Концентрированный буфер трис-НСI и концентрированную суспензию каолина количественно перенести из флаконов в мерный цилиндр и общий объем довести дистиллированной водой до **200 мл**. В результате получают рабочую суспензию каолина.

2. Для приготовления АПТВ-реагента смешать в пробирке **0,1 мл** раствора кефалина с **3,0 мл** рабочей суспензии каолина.

Перед применением АПТВ-реагент необходимо встряхнуть и выдержать при комнатной температуре в течение 15 мин.

#### В. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды).

## 2. Проведение анализа

### Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл исследуемой плазмы и прогреть ее при +37 °С в течение 1 мин.

2. В кювету добавить 0,1 мл АПТВ-реагента, имеющего комнатную температуру.

3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

### Мануальный вариант:

1. К 0,1 мл исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл АПТВ-реагента.

2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.

3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и включить секундомер.

4. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

Нормативные показатели АПТВ зависят от техники определения. При мануальном тестировании АПТВ в нормальной плазме составляет **30–42 с**, при коагулометрическом – **28–40 с**, в зависимости от типа коагулометра.

## Вариант использования реагентов набора: определение каолинового времени свертывания

С помощью разведенных по п. 1 реагентов набора может быть выполнено определение каолинового времени свертывания:

- богатой тромбоцитами плазмы (АБР);
- бедной тромбоцитами плазмы.

## Проведение анализа

В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести **0,1 мл** исследуемой плазмы и инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин, затем добавить 0,1 мл рабочей суспензии каолина, имеющей комнатную температуру, и инкубировать дополнительно в течение 3 мин. После этого внести в смесь 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С), включить секундомер или таймер коагулометра и определить время свертывания.

Нормативные показатели каолинового времени свертывания зависят от содержания в плазме тромбоцитов, техники определения и устанавливаются в каждой лаборатории на основании исследования группы здоровых людей.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **500-1000 анализов** при расходе АПТВ-реагента по 0,1-0,05 мл на 1 определение.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 2 мес с момента вскрытия его компонентов, а при дробном использовании предварительно разведенных и замороженных компонентов набора – 4 мес (см. ниже).

Кефалин после разведения можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес, не замораживать. Кефалин во втором флаконе разводят по мере необходимости.

Рабочую суспензию каолина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес. Для увеличения срока годности рабочей суспензии каолина с 1 до 4 мес рекомендуется разделить ее сразу после приготовления на 4 равные части, три из которых в герметично закрытом виде хранить при температуре -16... -20 °С.

АПТВ-реагент (каолин-кефалиновую смесь) можно хранить при комнатной температуре не более 1 дня или не более 2 дней – при температуре +2... +8 °С.

Концентрированный раствор кальция хлорида можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2 мес при условии герметизации флакона. Для увеличения срока годности концентрированного раствора кальция хлорида с 2 до 4 мес рекомендуется разделить его после вскрытия флакона на 2 равные части, одну из которых в герметично закрытом виде хранить при температуре -16... -20 °С.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при комнатной температуре не более 1 дня или не более 2 дней при температуре +2... +8 °С. Не допускается сливание остатков этого раствора после дня работы с герметично закрытым и хранящимся при температуре +2... +8 °С раствором.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

# АПТВ-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (на 100-200 опр.)

152

Каталожный  
номер набора

Только для  
in vitro  
диагностики

### Назначение

Набор **АПТВ-тест** предназначен для выполнения базовой методики исследования системы гемостаза - определения активированного парциального (частичного) тромбопластинового времени (АПТВ или АЧТВ). Определение АПТВ используется для выявления гипер- и гипокоагуляционного сдвига, контроля за гепаринотерапией при тромбозах, тромбоземболиях и ДВС-синдромах различной этиологии, для диагностики гемофилии (дефицит факторов VIII, IX, XI), болезни Виллебранда.

Реагенты набора могут использоваться для определения каолинового времени свертывания бедной и богатой тромбоцитами плазмы (активированного времени рекальцификации – АВР).

### Характеристика набора

Принцип метода АПТВ (АЧТВ). Определяется время свертывания плазмы крови в условиях стандартизированной контактной (каолином) и фосфолипидной (кефалином) активации процесса в присутствии ионов кальция.

### Состав набора:

1. **Кефалин** (лиофильно высушенный фосфолипидный компонент), на 1 мл – 2 фл.
2. **Каолин** (концентрированная суспензия 40:1 в дистиллированной воде), 1 мл – 1 фл.
3. **Буфер трис-НСl** (концентрированный 20:1 раствор, 1 М), 2 мл – 1 фл.
4. **Кальция хлорид** (концентрированный 20:1 раствор, 0,5 М), 2 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения АПТВ не превышает 6 %.

Допустимый разброс результатов определения АПТВ в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения in vitro.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, водяная баня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,05, 0,1 и 1,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- цилиндр мерный вместимостью 100 мл;
- перчатки резиновые хирургические;
- вода дистиллированная.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 1000 об/мин (240 g) в течение 7 мин.



Богатую тромбоцитами плазму переносят в другую пробирку и повторно центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 г) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму.

Для получения бедной тромбоцитами плазмы допускается однократное центрифугирование крови при 3000-4000 об/мин (1200 г) в течение 15 мин.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

**Примечание:** Бедная тромбоцитами плазма используется для определения АПТВ (АЧТВ) и каолинового времени бедной тромбоцитами плазмы. Богатая тромбоцитами плазма может быть использована для определения каолинового времени в такой плазме (или АВР).

## Приготовление реагентов и определение АПТВ (АЧТВ)

### 1. Подготовка реагентов к работе А. Разведение кефалина

В один флакон с кефалином внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и энергичном помешивании в течение 2 мин. В результате получают раствор кефалина, который до использования должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 60 мин.

### Б. Приготовление АПТВ-реагента

1. Концентрированный буфер трис-НСI и концентрированную суспензию каолина количественно перенести из флаконов в мерный цилиндр и общий объем довести дистиллированной водой до **40 мл**. В результате получают рабочую суспензию каолина.

2. Для приготовления АПТВ-реагента смешать в пробирке **0,05 мл** раствора кефалина с **0,6 мл** рабочей суспензии каолина. Перед применением АПТВ-реагент необходимо встряхнуть и выдержать при комнатной температуре в течение 15 мин.

### В. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида развести

дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды).

## 2. Проведение анализа Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл исследуемой плазмы и прогреть ее при +37 °С в течение 1 мин.
2. В кювету добавить 0,1 мл АПТВ-реагента, имеющего комнатную температуру.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

### Мануальный вариант:

1. К 0,1 мл исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл АПТВ-реагента.
2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и включить секундомер.
4. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом помешивании пробирки.

Нормативные показатели АПТВ зависят от техники определения. При мануальном тестировании АПТВ в нормальной плазме составляет 30-42 с, при коагулометрическом – 28-40 с, в зависимости от типа коагулометра.

## Вариант использования реагентов набора: определение каолинового времени свертывания

С помощью разведенных по п. 1 реагентов набора может быть выполнено определение каолинового времени свертывания:

- богатой тромбоцитами плазмы (АВР);
- бедной тромбоцитами плазмы.

## Проведение анализа

В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл исследуемой плазмы и инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин, затем добавить 0,1 мл рабочей суспензии каолина, имеющей комнатную температуру, и инкубировать дополнительно в течение 3 мин. После этого внести в смесь 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида

(имеющего температуру +37 °С), включить секундомер или таймер коагулометра и определить время свертывания. Нормативные показатели каолинового времени свертывания зависят от содержания в плазме тромбоцитов, техники определения и устанавливаются в каждой лаборатории на основании исследования группы здоровых людей.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение не менее **100-200 анализов** при расходе рабочих растворов реагентов по 0,1-0,05 мл на 1 анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 2 мес с момента вскрытия его компонентов, а при дробном использовании предварительно разведённых и замороженных компонентов набора – 4 мес (см. ниже).

Кефалин после разведения можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес, не замораживать. По мере необходимости разводят кефалин во втором флаконе.

Рабочую суспензию каолина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес. Для увеличения срока годности рабочей суспензии каолина с 1 до 4 мес рекомендуется разделить ее сразу после приготовления на 4 равные части, три из которых в герметично закрытом виде хранить при температуре -16... -20 °С.

АПТВ-реагент (каолин-кефалиновую смесь) можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 1 дня или не более 2 дней – при температуре +2... +8 °С.

Концентрированный раствор кальция хлорида можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2 мес при условии герметизации флакона. Не допускается сливание остатков этого раствора после дня работы с герметично закрытым и хранящимся при температуре +2... +8 °С раствором.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при комнатной температуре не более 1 дня или не более 2 дней при

температуре +2... +8 °С. Не допускается сливание остатков этого раствора после дня работы с герметично закрытым и хранящимся при температуре +2... +8 °С раствором.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ТРОМБИН

## Инструкция по применению реагента для исследования гемостаза

742

Каталожный  
номер реагентаТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Реагент «Тромбин» предназначен для определения тромбинового времени, которое используется для оценки конечного этапа свертывания плазмы крови.

Реагент предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика реагента

**Принцип метода.** Определяется время свертывания плазмы крови под действием тромбина стандартной активности.

### Фасовка:

Тромбин (жидкий реагент), 3-4 ед. НИН/мл, 10 мл – во флаконе.

### Аналитические характеристики реагента

Коэффициент вариации результатов определения тромбинового времени не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения тромбинового времени в одной пробе плазмы разными реагентами одной серии не более 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к реагенту.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения реагента – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Реагент используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен и проверен на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с реагентом следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с реагентом следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- коагулометр (при отсутствии коагулометра)
- секундомер, водяная баня на +37 °С;
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,1-1,0 мл;
- плазма-калибратор «Мультитех-калибратор» кат. № 773, производитель ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, признаки гемолиза и полученной более 2 ч

назад, а также подвергавшейся предварительному замораживанию.

При обследовании больных, получающих гепарин, рекомендуется предварительно инактивировать антикоагулянт.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагента к работе**

#### **1.1. Подготовка тромбина**

Тромбин в виде жидкого реагента готов к использованию.

#### **1.2. Получение плазмы-калибратора**

Плазма-калибратор в состав комплекта не входит. Для получения калибровочных значений тромбинового времени пригоден один из двух, представленных ниже вариантов:

**Вариант 1.** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равных пропорциях.

**Вариант 2.** Во флакон с «Мультитех-калибратором» (кат. № 773) внести 1,0 мл дистиллированной воды растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин.

### **2. Проведение анализа**

#### **2.1. Коагулометрический вариант:**

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл плазмы-калибратора и прогреть ее при температуре +37 °C.
2. По истечении 1 мин инкубации в кювету добавить 0,1 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °C) и зарегистрировать время свертывания (см. также инструкцию к коагулометру).

#### **2.2. Мануальный вариант:**

1. 0,2 мл контрольной нормальной бедной тромбоцитами плазмы, взятой в пробирку, прогреть в течение 1 мин при температуре +37 °C на водяной бане.
2. В ту же пробирку добавить 0,2 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °C) и включить секундомер.
3. Достать пробирку из бани и определить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

### **3. Чтение результатов**

Результат выражают в секундах, сравнивают время свертывания плазмы-калибратора и

исследуемой плазмы. Как правило, используют раствор тромбина, активность которого в плазме-калибраторе составляет 12-19 с (тромбиновое время свертывания).

При необходимости использования более слабого по активности тромбина (с активностью 20-30 с) допускается разведение тромбина физиологическим раствором до требуемой активности. Полученный раствор тромбина использовать в течение рабочего дня.

При обследовании больных с патологией системы гемостаза нередко встречается удлинение тромбинового времени, что может быть обусловлено следующими причинами:

- присутствие в крови антикоагулянтов (гепарин, дабигатран, ривароксабан и др.);
- образование и накопление в кровотоке продуктов деградации фибриногена/фибрина, обладающих антитромбиновой активностью;
- гипо- или афибриногенемия;
- дисфибриногенемия.

Несвертываемость плазмы под влиянием тромбина наблюдается после введения гепарина (более 5000 ед.), а также (часто) при заборе крови из венозного катетера.

### **4. Внутрिलाбораторный контроль качества**

При осуществлении внутрिलाбораторного контроля качества рекомендуется использовать реагент с нормальным диапазоном значений «Техноклот Н» (кат. № 774), а также реагент с патологическим диапазоном значений «Техноклот П» (кат. № 775).

### **Условия хранения и применения**

Один флакон с тромбином рассчитан на проведение **100 анализов** при расходе по 0,1 мл раствора реагента на 1 анализ.

Реагент необходимо хранить при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности реагента (**15 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается транспортировка реагента при температуре до +25 °C в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

После вскрытия флакон с тромбином хранить при температуре +2... +8 °C не более 30 дней в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный

температурный режим, при комнатной температуре (+18...+25 °C) не более 7 дней.

Допускается однократное замораживание при -16...-70 °C и хранение до 3 месяцев в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Пул свежеполученной плазмы крови хранить при комнатной температуре (+18... +25 °C) не более 3 ч.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагента. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагента могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества реагента «Тромбин», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТРОМБИН

## Инструкция по применению реагента для исследования гемостаза

323

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Фасовка:

**Тромбин** (лиофильно высушенный), 150 ед.  
NIH – во флаконе.

### Назначение

Реагент для исследования системы гемостаза (Тромбин) применяется для выполнения коагуляционных тестов (тромбинового времени, определения активности антитромбина III, тромбин-гепаринового времени свертывания и др.).

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Тромбин используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

При выполнении коагуляционных тестов следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, водяная баня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1-1,0 и 3,0 мл;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- буфер трис-НСl;
- перчатки резиновые хирургические.
- контрольная нормальная бедная тромбоцитами плазма (или РНП-плазма ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 012).

### Рекомендации по использованию

#### А. Разведение тромбина

Во флакон с тромбином внести **3,0 мл** физиологического (0,9 %) раствора хлорида натрия и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. В результате получают маточный раствор тромбина (50 ед. NIH/мл).

Рабочий раствор тромбина готовят при смешивании в силиконизированной (или полистироловой) пробирке 0,1 мл маточного раствора с буфером трис-НСl 0,05 М, рН 7,4 (производства ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 027), либо другим аналогичным по свойствам, до получения требуемой активности тромбина. Разведение маточного раствора тромбина физиологическим раствором (0,9 % раствором хлорида натрия) не рекомендуется ввиду снижения активности фермента.

#### Б. Контроль на свертывающую активность Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл контрольной нормальной бедной тромбоцитами исследуемой плазмы и прогреть ее при температуре +37 °С в течение 1 мин.
2. В кювету добавить 0,1 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

#### Мануальный вариант:

1. 0,2 мл контрольной нормальной бедной тромбоцитами плазмы, взятой в пробирку, прогреть в течение 1 мин при температуре +37 °С на водяной бане.
2. В ту же пробирку добавить 0,2 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

### Условия хранения и применения

Хранение лиофильно высушенного тромбина должно проводиться при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Маточный раствор тромбина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес; не замораживать.

Рабочий раствор тромбина можно хранить в силиконированной или пластиковой посуде при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 2 ч или не более 6 ч при температуре +2... +8 °С.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.



# ТРОМБИН

## Инструкция по применению реагента для исследования гемостаза

017

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Фасовка:

**Тромбин** (лиофильно высушенный),  
500 ед. NIH – во флаконе.

### Назначение

Реагент для исследования системы гемостаза (Тромбин) применяется для выполнения коагуляционных тестов (тромбинового времени, определения активности антитромбина III, тромбин-гепаринового времени свертывания и др.).

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Тромбин используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

При выполнении коагуляционных тестов следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, водяная баня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1-1,0 и 10,0 мл;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- буфер трис-НСl;
- перчатки резиновые хирургические;
- контрольная нормальная бедная тромбоцитами плазма (или РНП-плазма ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 012).

### Рекомендации по использованию

#### А. Разведение тромбина

Во флакон с тромбином внести **10,0 мл** физиологического (0,9 %) раствора хлорида натрия и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. В результате получают маточный раствор тромбина (50 ед. NIH/мл).

Рабочий раствор тромбина приготавливают при смешивании в силиконированной (или полистироловой) пробирке 0,1 мл маточного раствора с буфером трис-НСl 0,05 М, рН 7,4 (производства ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 027), либо другим аналогичным по свойствам, до получения требуемой активности тромбина. Разведение маточного раствора тромбина физиологическим раствором (0,9 % раствором хлорида натрия) не рекомендуется ввиду снижения активности фермента.

#### Б. Контроль на свертывающую активность Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл контрольной нормальной бедной тромбоцитами исследуемой плазмы и прогреть ее при температуре +37 °С в течение 1 мин.

2. В кювету добавить 0,1 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

#### Мануальный вариант:

1. 0,2 мл контрольной нормальной бедной тромбоцитами плазмы, взятой в пробирку, прогреть в течение 1 мин при температуре +37 °С на водяной бане.

2. В ту же пробирку добавить 0,2 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

### Условия хранения и применения

Хранение лиофильно высушенного тромбина должно проводиться при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Маточный раствор тромбина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес; не замораживать.

Рабочий раствор тромбина можно хранить в силиконированной или пластиковой посуде при комнатной температуре не более 2 ч или не более 6 ч при температуре +2... +8 °С.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

# ТРОМБО-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения тромбинового времени (на 50-100 опр.)

151

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор предназначен для определения тромбинового времени при диагностике нарушений конечного этапа свертывания.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении времени свертывания плазмы крови под влиянием тромбина стандартной активности.

### Состав набора:

1. **Тромбин** (лиофильно высушенный, 6-8 ед. NIH во фл.) – 4 фл.
2. **Контрольная плазма** (нормальная лиофильно высушенная) – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения тромбинового времени не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения тромбинового времени в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, пробирки стеклянные, водяная баня на +37 °С);
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

### Приготовление реагентов и проведение анализа

#### 1. Подготовка реагентов к работе

##### 1.1. Разведение тромбина

В один из флаконов с тромбином внести необходимое количество дистиллированной воды (см. таблицу в Паспорте к набору) и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 2-3 мин.

Свертывающая активность приготовленного таким образом раствора тромбина проверяется на контрольной плазме, входящей в состав набора, или свежей нормальной плазме.

Раствор тромбина рекомендуется не прогревать при температуре +37 °С и хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

### 1.2. Разведение контрольной плазмы

Во флакон с контрольной плазмой внести **0,5 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. Использовать для контроля свертывающей активности тромбина (см. п. 2.1), хранить при температуре +18... +25 °С не более 3 ч.

## 2. Проведение анализа

### 2.1. Контроль на свертывающую активность Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл контрольной плазмы и прогреть ее при +37 °С в течение 1 мин.

2. В ту же кювету добавить 0,1 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

### Мануальный вариант:

1. Контрольную плазму (0,2 мл), взятую в пробирку, прогреть в течение 1 мин при +37 °С.

2. В ту же пробирку добавить 0,2 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

### 2.2. Исследование плазмы больного

Выполняется аналогично контролю на свертывающую активность, но контрольная плазма заменяется на плазму обследуемого больного.

## Чтение результатов

Результат выражают в секундах, сравнивают время свертывания контрольной и исследуемой плазмы. Как правило, используют раствор тромбина, активность которого в контрольной

плазме составляет **14-17 с** (тромбиновое время свертывания). Укорочение этого времени чаще всего свидетельствует о гиперфибриногенемии. С другой стороны, при обследовании больных с патологией системы гемостаза нередко встречается удлинение тромбинового времени, что может быть обусловлено следующими причинами:

- присутствие в крови быстродействующих антикоагулянтов (гепарин и др.);
- образование и накопление в кровотоке продуктов деградации фибриногена/фибрина, обладающих антитромбиновой активностью;
- гипофибриногенемия;
- дисфибриногенемия (качественный дефект фибриногена);

Полная несвертываемость плазмы под влиянием тромбина наблюдается сразу после внутривенного введения терапевтических доз (5000-10000 ед.) гепарина.

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение не менее **50-100 анализов** при расходе раствора тромбина по 0,1-0,2 мл на 1 определение. Число анализов зависит от используемого разведения тромбина.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Раствор тромбина можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 2 ч или не более 6 ч – при температуре +2... +8 °С.

Контрольную плазму после разведения можно хранить при комнатной температуре не более 3 ч.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ТРОМБО-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения тромбинового времени (на 50-100 опр.)

609

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор предназначен для определения тромбинового времени при диагностике нарушений конечного этапа свертывания.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении времени свертывания плазмы крови под влиянием тромбина стандартной активности.

### Состав набора:

**Тромбин** (лиофильно высушенный, 6-8 ед. NIH во фл.) – 4 фл.

**Контрольная плазма** в состав набора данной комплектации не входит. Для получения контрольных значений тромбинового времени свертывания следует использовать пул бедной тромбоцитами плазмы, полученной от 3-5 практически здоровых людей. Также может быть использована коммерческая контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю (например, РНП-плазма, производства ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 012 и 717).

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения тромбинового времени – в диапазоне от 11 до 120 с.

Коэффициент вариации результатов определения тромбинового времени не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения тромбинового времени в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются

только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, пробирки стеклянные, термобаня на +37 °С);
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2 и 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение тромбина

В один из флаконов с тромбином внести необходимое количество дистиллированной воды (см. таблицу в Паспорте к набору) и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 2-3 мин.

Свертывающая активность приготовленного таким образом раствора тромбина проверяется на контрольной плазме.

#### 1.2. Получение контрольной плазмы:

**Вариант 1:** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. выше раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равной пропорции.

**Вариант 2:** Может быть также использована коммерческая контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю (например, РНП-плазма, производства ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 012 и 717).

### 2. Проведение анализа

#### 2.1. Контроль на свертывающую активность Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл контрольной плазмы и прогреть ее при +37 °С в течение 1 мин.

2. В ту же кювету добавить 0,1 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

#### Мануальный вариант:

1. Контрольную плазму (0,2 мл), взятую в пробирку, прогреть в течение 1 мин при +37 °С.

2. В ту же пробирку добавить 0,2 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

#### 2.2. Исследование плазмы больного

Выполняется аналогично контролю на свертывающую активность, но контрольная плазма заменяется на плазму обследуемого больного.

## Чтение результатов

Результат выражают в секундах, сравнивают время свертывания контрольной и исследуемой плазмы. Как правило, используют раствор тромбина, активность которого в контрольной плазме составляет **14-17 с** (тромбиновое время свертывания).

Укорочение этого времени чаще всего свидетельствует о гиперфибриногенемии. С другой стороны, при обследовании больных с патологией системы гемостаза нередко встречается удлинение тромбинового времени, что может быть обусловлено следующими причинами:

- присутствие в крови быстродействующих антикоагулянтов (гепарин и др.);
- образование и накопление в кровотоке продуктов деградации фибриногена/фибрина, обладающих антитромбиновой активностью;
- гипофибриногенемия;
- дисфибриногенемия.

Полная несвертываемость плазмы под влиянием тромбина наблюдается после внутривенного введения терапевтических доз (5000-10000 ед.) гепарина.

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение не менее **50-100 анализов** при расходе раствора тромбина по 0,1-0,2 мл на 1 определение. Число анализов зависит от используемого разведения тромбина.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Раствор тромбина можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 2 ч или не более 6 ч – при температуре +2... +8 °С.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 1999. – 224 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ТРОМБО-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения тромбинового времени (на 400-800 опр.)

610

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор предназначен для определения тромбинового времени при диагностике нарушений конечного этапа свертывания.

### Характеристика набора

Принцип метода. Закладывается в определение времени свертывания плазмы крови под влиянием тромбина стандартной активности.

### Состав набора:

1. **Тромбин** (лиофильно высушенный, 150 ед. NIH во фл.) – 2 фл.
2. **Буфер трис-НСI** (концентрированный 20:1 раствор, 1 М), 5 мл – 2 фл.

**Контрольная плазма** в состав набора данной комплектации не входит. Для получения контрольных значений тромбинового времени свертывания следует использовать пул бедной тромбоцитами плазмы, полученной от 3-5 практически здоровых людей. Также может быть использована коммерческая контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю, например, РНП-плазма, производитель ООО фирма «Технология-Стандарт», каталожный номер 717 или 012.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения тромбинового времени не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения тромбинового времени в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых

концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, пробирки стеклянные, термобаня на +37 °C);
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2 и 5,0 мл;
- вода дистиллированная;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.



## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

**1.1. Разведение концентрированного буфера**  
Концентрированный буфер трис-НСI перенести из флакона в мерный цилиндр и общий объем довести дистиллированной водой до **100 мл**. В результате получают рабочий раствор трис-буфера. Второй флакон с буфером трис-НСI развести по мере необходимости.

### 1.2. Разведение тромбина

1. В один из флаконов с тромбином внести **5,0 мл** физиологического (0,9 %) раствора натрия хлорида и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 2-3 мин. В результате получают маточный раствор тромбина (хранится без существенной потери коагуляционной активности при температуре +2... +8 °C до 30 дней).

2. Для приготовления рабочего раствора тромбина смешать в пробирке один объем маточного раствора с указанным в Паспорте к набору объемом рабочего раствора буфера. Полученный рабочий раствор тромбина при добавлении к контрольной плазме (см. Проведение анализа) должен иметь активность **15-16 с**. В случае необходимости к раствору добавить небольшое количество буфера или маточного раствора тромбина для получения требуемой активности последнего. Рабочий раствор тромбина для сохранения активности рекомендуется готовить в силиконированной или пластиковой (полистироловой) пробирке, не прогревать при температуре +37 °C и хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

### 1.3. Получение контрольной плазмы

**Вариант 1:** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. выше раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равных пропорциях.

**Вариант 2:** Может быть также использована коммерческая контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю, например, РНП-плазма, производитель ООО фирма «Технология-Стандарт», каталожный номер 717 или 012.

## 2. Проведение анализа

### 2.1. Контроль на свертывающую активность Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл контрольной плазмы и прогреть ее при +37 °C в течение 1 мин.
2. В ту же кювету добавить 0,1 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18...+25 °C) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

### Мануальный вариант:

1. 1. Контрольную плазму (0,2 мл), взятую в пробирку, прогреть в течение 1 мин при +37 °C.
2. В ту же пробирку добавить 0,2 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18...+25 °C) и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

### 2.2. Исследование плазмы больного

Выполняется аналогично контролю на свертывающую активность, но контрольная плазма заменяется на плазму обследуемого больного.

## Чтение результатов

Результат выражают в секундах, сравнивают время свертывания контрольной и исследуемой плазмы. В норме тромбиновое время составляет **14-17 с**. Укорочение этого времени чаще всего свидетельствует о гиперфибриногенемии. Чаще при обследовании больных с патологией системы гемостаза встречается удлинение тромбинового времени, что может быть обусловлено следующими причинами:

- присутствие в крови быстродействующих антикоагулянтов (гепарин и др.);
- образование и накопление в кровотоке продуктов деградации фибриногена/фибрина, обладающих антитромбиновой активностью;
- гипофибриногенемия;
- дисфибриногенемия.

Полная несвертываемость плазмы под влиянием тромбина наблюдается сразу после внутривенного введения терапевтических доз (5000-10000 ед.) гепарина.

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на исследование **800** образцов плазмы при использовании автоматических и полуавтоматических коагулометров. При использовании мануальной техники определений и ряда полуавтоматических коагулометров (при расходе раствора тромбина по 0,2 мл на 1 анализ) число определений снижается до **400**.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 1 мес с момента вскрытия его компонентов, а при дробном использовании предварительно разведённых и замороженных компонентов набора – 2 мес (*см. ниже*).

Маточный раствор тромбина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес. Для увеличения срока годности маточного раствора тромбина с 1-го до 2-х мес рекомендуется сразу же после разведения разделить его на 2 равные части, одну из которых в герметично закрытом виде хранить при температуре -8... -20 °С.

Рабочий раствор тромбина можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 2 ч или не более 6 ч – при температуре +2... +8 °С.

Контрольную свежеполученную плазму хранить при комнатной температуре не более 3 ч.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

# ТЕХ-ПОЛИМЕР-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения нарушений конечного этапа свертывания крови

640

Каталожный  
номер набораТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор **Тех-Полимер-тест** предназначен для определения нарушений конечного этапа свертывания крови, связанных с замедлением или ускорением полимеризации фибрин-мономера. Метод используется при диагностике дисфибриногенемии или наклонности к внутрисосудистому свёртыванию крови.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Определяется время свертывания плазмы крови под действием тромбина стандартной активности в присутствии ингибитора полимеризации фибрин-мономера. Данный показатель отражает динамику образования и время полимеризации фибрин-мономеров в исследуемом образце плазмы крови.

### Состав набора:

1. **Тромбин** (лиофильно высушенный, 150 ед. NIH) – 2 фл.
2. **Растворитель для тромбина**, 9 мл – 1 фл.
3. **Раствор с ингибитором полимеризации фибрин-мономера**, 5 мл – 2 фл.

Контрольная плазма в состав набора не входит. Для получения контрольных значений времени полимеризации следует использовать пул бедной тромбоцитами плазмы, полученной от 3-5 практически здоровых людей. Лиофильно высушенные образцы контрольной плазмы для исследования не пригодны.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения времени полимеризации не превышает 10 %. Допустимый разброс результатов определения времени полимеризации в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- полуавтоматический коагулометр с механическим принципом регистрации сгустка (при его отсутствии секундомер, водяная баня на +37°С
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение до 3000 об/мин (1200 g);
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкостей 0,05 мл; 0,1 мл; 0,2 мл; 1,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- осветитель для микроскопа;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трехзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 1000 об/мин (240 g) при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 7 мин. Богатую тромбоцитами плазму переносят в другую пробирку и повторно центрифугируют при 3000 об/мин (1200 g) при комнатной температуре в течение 15 мин.

Для получения бедной тромбоцитами плазмы допускается однократное центрифугирование крови при 3000–4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу после завершения повторного центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагентов к работе**

#### **А. Разведение тромбина**

В один из флаконов с лиофильно высушенным тромбином внести **4,0 мл** растворителя для тромбина и растворить содержимое при комнатной температуре (+18...+25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин.

В результате получают раствор тромбина, который до использования должен быть выдержан при комнатной температуре не менее 15 мин. Второй флакон с тромбином используют по необходимости.

#### **Б. Получение контрольной плазмы**

В день исследования подготавливается бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. выше раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3–5 практически здоровых доноров, перед исследованием смешивается в равной пропорции.

### **2. Проведение анализа**

#### **Коагулометрический вариант\*:**

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл исследуемой плазмы и инкубировать при температуре +37 °C в течение 1 мин.

2. Затем в кювету добавить 0,05 мл раствора, содержащего ингибитор полимеризации фибрин-мономера, имеющего комнатную температуру, и продолжить инкубирование смеси при температуре +37 °C.

3. Через 1 мин к смеси добавить 0,05 мл тромбина, имеющего комнатную температуру, и начать отсчет времени свертывания.

4. Аналогично выполнить исследование в пуле свежеполученной контрольной плазмы.

#### **Мануальный вариант:**

1. Добавить 0,2 мл исследуемой плазмы в стеклянную пробирку и инкубировать на водяной бане при температуре +37 °C в течение 1 мин.

2. Затем в пробирку добавить 0,1 мл раствора, содержащего ингибитор полимеризации фибрин-мономера, имеющего комнатную температуру, и продолжить инкубирование смеси при температуре +37 °C.

3. Через 1 мин к смеси добавить 0,1 мл тромбина, имеющего комнатную температуру, включить секундомер и отметить время свертывания при (образовании фибрина) в проходящем свете от осветителя при периодическом покачивании пробирки.

4. Аналогично выполнить исследование в пуле свежеполученной контрольной плазмы.

### **3. Чтение результатов**

1. Отмечают время полимеризации фибрин-мономера в секундах в плазме у больного и в пулированной контрольной нормальной плазме.

2. Рассчитывают показатель *Ratio (R)* по формуле:

$$R = \frac{t_1}{t_2}, \text{ где}$$

*t*<sub>1</sub> – время полимеризации фибрин-мономера в плазме больного, с;

*t*<sub>2</sub> – время полимеризации фибрин-мономера в пулированной контрольной плазме, с.

В норме *R* составляет 0,81–1,19.

Показатель *R* плазмы крови пациента менее 0,81 свидетельствует о гиперкоагуляционном сдвиге на конечном этапе свертывания крови. Результаты вычисления *R*, превышающие 1,19, обусловлены дисфибриногемией или гипокоагуляционным сдвигом, обусловленным нарушением фибринообразования на конечном этапе свертывания крови.

## **Условия хранения и применения набора**

Набор рассчитан на проведение **80–160 анализов** при расходе растворов реагентов по 0,05–0,1 мл на 1 анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2...+8 °C в течение всего срока годности набора (**12 мес**). Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °C в течение 30 сут.

---

\* – особенности использования различных коагулометров с механическим принципом регистрации сгустка указаны в Паспорте к набору реагентов.

Раствор тромбина можно хранить при комнатной температуре не более 6 ч или при температуре +2...+8 °С – не более 7 сут; не замораживать.

Раствор с ингибитором полимеризации фибрин-мономера после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2...+8 °С при условии достаточной герметизации флакона не более 7 сут; не замораживать.

Растворитель для тромбина после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2...+8 °С при условии достаточной герметизации флакона не более 14 сут; не замораживать.

Бедную тромбоцитами плазму крови пациентов можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч. Возможно её замораживание при температуре -18... -20 °С на срок до 30 сут.

## Литература

1. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинко-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
2. Момот А.П., Тараненко И.А. Способ определения времени самосборки фибрин-мономера. Патент РФ № 2366955 от 10.09.09.

# АНЦИСТРОН

## Инструкция по применению реагента для исследования гемостаза

190

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Фасовка:

**Анцистрон** (лиофильно высушенный) –  
5 флаконов.

### Назначение

**Анцистрон** представляет собой очищенную коагулазу, получаемую из яда змеи *Agkistrodon halys halys*. Анцистрон, так же, как рептилаза, атроксин или батроксобин (из яда змеи *Bothrops atrox*), осуществляет свертывание плазмы крови путем превращения фибриногена в фибрин (без участия других факторов гемокоагуляции). От действия тромбина анцистрон отличается тем, что отщепляет от молекулы фибриногена только пептиды А, не активирует фактор XIII, а также тем, что эффект анцистрона не блокируется антитромбином III и комплексом "гепарин-антитромбин III".

Время свертывания фибриногена плазмы под действием тромбина и анцистрона увеличивается в присутствии продуктов деградации фибриногена/фибрина (ПДФ), при выраженной гипофибриногенемии (менее 1,0 г/л) и при качественных дефектах фибриногена. В связи с этим определение анцистронового времени свертывания (в комбинации с тромбиновым тестом) используется для:

- 1) дифференциации причин удлинения тромбинового времени свертывания (при лечении гепарином анцистроновое время в пределах нормы, тромбиновое время удлинено; при увеличении уровня ПДФ – наблюдается удлинение как тромбинового, так и анцистронового времени);
- 2) контроля за лечением фибринолитиками;
- 3) диагностики наследственных и вторичных (симптоматических) а/гипо- и дисфибриногенемий.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Раствор анцистрона используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

При работе с анцистроном следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра – секундомер, термобаня на +37 °С);
- Центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2 и 1,0 мл;
- дистиллированная вода;
- свежеполученная цитратная бедная тромбоцитами контрольная плазма (или РНП-плазма производства ООО фирмы «Технология-Стандарт», кат. № 012).

### Приготовление анализируемых образцов плазмы

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконовую пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

## Приготовление реагента и проведение анализа

### 1. Подготовка реагента к работе Разведение анцистрона

В один флакон с анцистроном внести указанный в Паспорте к реагенту объем дистиллированной воды и выдержать при +37 °С (на водяной бане) в течение 30 мин. В результате получают готовый к использованию раствор анцистрона.

Полученный раствор можно использовать в течение 6 ч в условиях хранения при температуре +37 °С, в течение 12 ч – при комнатной температуре (+18... +25 °С) и в течение 7 дней – при температуре +2... +8 °С.

Активность полученного раствора проверяется в анцистроновом тесте, как описано ниже (см. *Проведение анализа*). Время свертывания контрольной нормальной бедной тромбоцитами плазмы (или РНП-плазмы, производства ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 012) должно составлять **16-22 с**. Данное время варьирует в зависимости от техники проведения исследований (мануально или на коагулометре).

### 2. Проведение анализа

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,2 мл контрольной плазмы нормальной плазмы (или разведенной РНП-плазмы).

2. Инкубировать 2 мин при температуре +37 °С.

3. Добавить 0,2 мл рабочего раствора анцистрона, имеющего температуру +37 °С и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

**Примечание:** При проведении анализа в мини-варианте допускается уменьшение в два раза объемов смешиваемых реагентов (с 0,2 мл до 0,1 мл).

Аналогично определить анцистроновое время в образцах плазмы больных.

### 3. Чтение результатов

Результат выражают в секундах, сравнивая время свертывания контрольной нормальной и исследуемой плазмы.

В норме анцистроновое время составляет **22-32 с**. Совпадение результатов теста в исследуемом и контрольном образцах плазмы говорит об отсутствии дефицита или аномалии фибриногена. Удлинение времени свертывания более, чем на 4 с может быть связано с гипо- или дисфибриногенемией. При гепаринотерапии анцистроновое время

не нарушается, но удлиняется под влиянием ПДФ.

## Условия хранения и применения

Комплект анцистрона рассчитан на выполнение не менее **25 (50 в мини-варианте) определений** анцистронового времени (5 фл.х5 опред. или 5 фл.х10 опред.).

Хранение комплекта с лиофильно высушенным анцистроном должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**36 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Раствор анцистрона можно хранить при +37 °С не более 6 ч, при комнатной температуре – не более 12 ч или не более 7 дней – при температуре +2... +8 °С.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Диагностика нарушений гемостаза с помощью змеиных ядов: Методические рекомендации МЗ СССР. – М. – 1988. / З.С. Баркаган и др.
3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.



# РФМК-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме крови (флаконный вариант)

081

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор **РФМК-тест** предназначен для качественного определения в плазме крови растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), являющихся маркерами внутрисосудистого свертывания крови при тромбозах, тромбозмболиях, ДВС-синдромах различного генеза.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Принцип метода определения РФМК в плазме крови заключается в появлении в плазме, содержащей РФМК, зёрен (паракоагулята) фибрина после добавления к ней раствора фенантролина.

### Состав набора:

1. **Орто-фенантролина гидрохлорид**, 70 мг – 2 фл.
2. **Контроль-минус** (лиофилизированная плазма человека, не содержащая РФМК), на 1 мл – 1 фл.
3. **Контроль-плюс** (лиофилизированная плазма человека, содержащая РФМК), на 1 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

При исследовании контрольной плазмы (Контроль-минус), входящей в состав набора РФМК-тест, отмечается отсутствие паракоагуляции в течение **60 с**.

При исследовании контрольной плазмы (Контроль-плюс), также входящей в состав набора, отмечается наличие паракоагуляции в пределах **от 5 до 40 с**.

Тест не чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- осветитель для микроскопа;
- пипетки вместимостью 0,1; 1,0 и 10,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

**Внимание!** Тест особо чувствителен к погрешностям при получении крови.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более

2 ч назад, а также замороженной плазмы крови. Указанные погрешности приводят к “внутрипробирочному” образованию РФМК и завышению результатов определений.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение о-фенантролина

В один из двух флаконов с орто-фенантролина гидрохлоридом (далее по тексту – фенантролином) внести **10,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 2 мин. В результате получают раствор фенантролина. Аналогично, по мере необходимости, развести содержимое второго флакона с фенантролином.

#### 1.2. Разведение контрольной плазмы

##### (Контроль-плюс и Контроль-минус)

Во флакон с плазмой, содержащей РФМК (Контроль-плюс), внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. Аналогично развести содержимое флакона с плазмой, не содержащей РФМК (Контроль-минус).

Контрольная плазма разводится в день начала использования реагентов набора РФМК-тест и служит для проверки правильности выполнения анализа. Используется в течение одного часа после разведения в условиях хранения при комнатной температуре.

## 2. Проведение анализа

Определения проводят при комнатной температуре смешиваемых реагентов.

К 0,1 мл исследуемой плазмы крови, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл раствора фенантролина. Немедленно включить секундомер. При непрерывном покачивании пробирки в проходящем свете (желательно использовать осветитель для микроскопа типа ОИ-19) регистрируют время от момента добавления реагента до начала появления первых зерен фибрина.

## 3. Чтение результатов

### 3.1. Качественный вариант учета результатов определения РФМК в плазме крови

В течение 60 с отметить появление зёрен паракоагулята (в случае положительного результата) или их отсутствие (отрицательный результат).

В нормальной плазме крови результат отрицательный.

### 3.2. Количественный вариант методики определения РФМК в плазме крови<sup>1</sup>

Обычно в первые 120 с регистрируются хорошо видимые в проходящем свете зерна (паракоагулят) фибрина. Отметить время их появления в секундах и по таблице определить количество РФМК в исследуемой плазме.

В норме содержание РФМК в плазме по количественному варианту методики составляет в среднем **3,38±0,02 мг/100 мл** (или **3,38 мг%**), с верхним пределом нормы **4,5 мг/100 мл**.

Повышение уровня РФМК характерно для активации свертывания крови, причем, чем больше их концентрация, тем выше риск внутрисосудистого тромбообразования. Эффект от гепаринотерапии проявляется снижением ранее повышенного показателя.

*Ложное завышение результатов теста наблюдается при:*

- дефектах в заборе крови, приводящих к активации свертывания *in vitro* (чаще всего при недостаточном перемешивании крови и цитрата натрия);
- хранении плазмы до анализа более 1 ч.

## Перевод результатов (с) в количественное содержание РФМК в плазме

Время, с	Концентрация РФМК, мг/100 мл	Время, с	Концентрация РФМК, мг/100 мл
5-6	28,0	21-23	10,0
7	26,0	24-25	9,0
8	24,0	26	8,5
9	22,0	27-28	8,0
10	21,0	29-31	7,5
11	19,0	32-33	7,0
12	17,0	34-36	6,5
13	16,0	37-40	6,0
14	15,0	41-45	5,5
15	14,0	46-54	5,0
16	13,0	55-69	4,5
17-18	12,0	70-87	4,0
19-20	11,0	88-120	3,5
		свыше 120	3,0

<sup>1</sup> Момот А.П., Елыкомов В.А., Баркаган З.С. Методика и клиническое значение паракоагуляционного фенантролинового теста. // Клинич. лабораторная диагностика. – 1996. – N 4. – С. 17-20.

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **200 анализов** при расходе раствора фенантролина по 0,1 мл на 1 анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Раствор фенантролина можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 3 недель, не замораживать.

Разведенную контрольную плазму можно хранить при комнатной температуре не более 1 часа, не замораживать.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика
2. и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
3. Елькомов В.А., Момот А.П. Авторское свидетельство 1371219, 1987. СССР / Способ определения количества растворимого комплекса фибрин-мономера в плазме крови.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
5. Момот А.П., Цыпкина Л.П., Тараненко И.А. и соавт. Современные методы распознавания тромботической готовности. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2011. – 138 с.

# РФМК-ТЕСТ

007

Только для  
*in vitro*  
диагностикиКаталожный  
номер набора

## Инструкция по применению набора реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме крови (планшетный вариант)

### Назначение

Набор **РФМК-тест** предназначен для качественного определения в плазме крови растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), являющихся маркерами внутрисосудистого свертывания крови при тромбозах, тромбоэмболиях, ДВС-синдромах различного генеза.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Принцип метода определения РФМК в плазме крови заключается в появлении в плазме, содержащей РФМК, зёрен (паракоагулята) фибрина после добавления к ней раствора фенантролина.

### Состав набора:

1. **Орто-фенантролина гидрохлорид**, 70 мг (реагент расфасован в 96 лунках планшета) – 1 планшет.
2. **Контроль-минус** (лиофилизированная плазма крови человека, не содержащая РФМК), на 1 мл – 1 фл.
3. **Контроль-плюс** (лиофилизированная плазма крови человека, содержащая РФМК), на 1 мл – 1 фл.
4. **Палочка для перемешивания** – 1 шт.
5. **Копьё-скарификатор** – 1 шт.

### Аналитические характеристики набора

Получаемые при применении набора РФМК-тест результаты являются качественными, т.е. расцениваются как положительные или отрицательные.

При исследовании контрольной плазмы (Контроль-минус), входящей в состав набора РФМК-тест, отмечается отсутствие паракоагуляции в течение **60 с**.

При исследовании контрольной плазмы (Контроль-плюс), также входящей в состав набора, отмечается наличие паракоагуляции в пределах **от 5 до 40 с**.

Тест не чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- осветитель для микроскопа;
- скарификатор-копье;
- пипетки вместимостью 0,1; 1,0 и 10,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку,

где хранят до проведения исследования.

**Внимание!** *Тест особо чувствителен к погрешностям при получении крови.*

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови. Указанные погрешности приводят к “внутрипробирочному” образованию РФМК и завышению результатов определений.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагентов к работе**

#### **1.1. Разведение о-фенантролина**

После надреза и удаления с помощью скарификатора участка пленки над одной из лунок планшета, в лунку при комнатной температуре внести **0,25 мл** дистиллированной воды. После перемешивания стеклянной палочкой в течение 10-15 с получают раствор фенантролина.

#### **1.2. Разведение контрольной плазмы (Контроль-плюс и Контроль-минус)**

Во флакон с плазмой, содержащей РФМК (Контроль-плюс), внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. Аналогично развести содержимое флакона с плазмой, не содержащей РФМК (Контроль-минус).

Контрольная плазма разводится в день начала использования реагентов набора РФМК-тест и служит для проверки правильности выполнения анализа. Используется в течение 1 ч после разведения в условиях хранения при комнатной температуре.

### **2. Проведение анализа**

Определения проводят при комнатной температуре (+18... +25 °C) смешиваемых реагентов.

К 0,1 мл исследуемой плазмы крови, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл раствора фенантролина. Немедленно включить секундомер. При непрерывном покачивании пробирки в проходящем свете (желательно использовать осветитель для микроскопа типа ОИ-19) регистрируют время от момента

добавления реагента до начала появления первых зерен фибрина.

### **3. Чтение результатов**

#### **3.1. Качественный вариант учета результатов определения РФМК в плазме крови**

В течение 60 с отметить появление зёрен паракоагулята (в случае положительного результата) или их отсутствие (отрицательный результат).

В нормальной плазме крови результат отрицательный.

#### **3.2. Количественный вариант методики определения РФМК в плазме крови<sup>1</sup>**

Обычно в первые 120 с регистрируются хорошо видимые в проходящем свете зерна (паракоагулят) фибрина. Отметить время их появления в секундах и по таблице определить количество РФМК в исследуемой плазме.

В норме содержание РФМК в плазме по количественному варианту методики составляет в среднем **3,38±0,02 мг/100 мл** (или **3,38 мг%**), с верхним пределом нормы **4,5 мг/100 мл**.

Повышение уровня РФМК характерно для активации свертывания крови, причем, чем больше их концентрация, тем выше риск внутрисосудистого тромбообразования. Эффект от гепаринотерапии проявляется снижением ранее повышенного показателя.

*Ложное завышение результатов теста наблюдается при:*

- дефектах в заборе крови, приводящих к активации свертывания *in vitro* (чаще всего при недостаточном перемешивании крови и цитрата натрия);
- хранении плазмы до анализа более 1 ч.

<sup>1</sup> Момот А.П., Елыкомов В.А., Баркаган З.С. Методика и клиническое значение паракоагуляционного фенантролинового теста. // Клинич. лабораторная диагностика. – 1996. – N 4. – С. 17-20.

## Перевод результатов (с) в количественное содержание РФМК в плазме

Время, с	Концентрация РФМК, мг/100 мл	Время, с	Концентрация РФМК, мг/100 мл
5-6	28,0	21-23	10,0
7	26,0	24-25	9,0
8	24,0	26	8,5
9	22,0	27-28	8,0
10	21,0	29-31	7,5
11	19,0	32-33	7,0
12	17,0	34-36	6,5
13	16,0	37-40	6,0
14	15,0	41-45	5,5
15	14,0	46-54	5,0
16	13,0	55-69	4,5
17-18	12,0	70-87	4,0
19-20	11,0	88-120	3,5
		свыше 120	3,0

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение  
**192 анализов** при расходе растворов  
реагентов по 0,1 мл на 1 анализ.

Хранение набора должно проводиться  
при температуре +2... +8 °С в течение всего  
срока годности набора (**24 мес**). Допускается  
транспортировка при температуре до +25 °С  
в течение 30 сут. Замораживание  
не допускается.

Разведенную контрольную плазму можно  
хранить при комнатной температуре  
не более 1 часа, не замораживать.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика  
и контролируемая терапия нарушений  
гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Елыкомов В.А., Момот А.П. Авторское  
свидетельство 1371219, 1987. СССР / Способ  
определения количества растворимого  
комплекса фибрин-мономера в плазме крови.
3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы  
и алгоритмы клинко-лабораторной  
диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
4. Момот А.П., Цыпкина Л.П., Тараненко И.А. и  
соавт. Современные методы распознавания  
тромботической готовности. – Барнаул: Изд-во  
Алт. ун-та, 2011. – 138 с.

# МУЛЬТИТЕХ- ФИБРИНОГЕН

## Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации фибриногена (для полуавтоматических коагулометров)



Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор предназначен для количественного определения содержания фибриногена в плазме крови **на полуавтоматических коагулометрах**, без предварительного разведения исследуемой плазмы.

### Характеристика набора

**Принцип метода** заключается в определении времени свертывания цитратной плазмы избытком тромбина (модифицированный метод Clauss). Время свертывания при этом пропорционально концентрации фибриногена, которую определяют по калибровочному графику.

### Состав набора:

1. **Тромбин** (лиофилино высушенный реагент, 500 ед. NIH) – 2 фл.
2. **Растворитель для тромбина**, 10,5 мл – 2 фл.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения от 0,9 до 10,0 г/л.

Коэффициент вариации результатов определения концентрации фибриногена не превышает 10 %.

Содержание гепарина в плазме до 1,0 Ед/мл не влияет на результаты определения.

Допустимый разброс результатов определения концентрации фибриногена в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- полуавтоматический коагулометр;
- дозаторы пипеточные на 0,1-0,2, 10,0 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические;
- набор калибраторов «Фибриноген-калибратор» (кат. № 714, производитель ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно).

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение тромбина

В один флакон с тромбином внести **10,0 мл** растворителя для тромбина и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25°C) и перемешивании в течение 5 мин. В результате получают раствор тромбина. Тромбин во втором флаконе разводят по необходимости.

#### 1.2. Разведение калибратора фибриногена

В каждый из пяти флаконов калибраторов фибриногена (заказывается дополнительно) внести по **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и слабом покачивании в течение 15 мин. В результате получают калибраторы с указанной в *Паспорте к набору калибраторов* концентрацией фибриногена.

### 2. Построение калибровочной кривой

Для построения калибровочной кривой необходим набор калибраторов фибриногена «Фибриноген-калибратор» (кат.№ 714; заказывается дополнительно).

2.1. В кювету коагулометра внести **0,1 мл** плазмы-калибратора №1.

2.2. Инкубировать при температуре +37 °C в течение 1 мин.

2.3. В ту же кювету добавить **0,2 мл** рабочего раствора тромбина, имеющего комнатную температуру и начать отсчет времени свертывания.

2.4. Аналогично определить время свертывания с плазмой-калибратором №2, №3, №4 и №5.

2.5. По полученным данным необходимо построить калибровочную кривую.

### 3. Проведение анализа

3.1. В кювету коагулометра внести **0,1 мл** (см. раздел *"Приготовление анализируемых образцов"*) исследуемой плазмы и прогреть её в течение 1 мин при температуре +37 °C.

3.2. В ту же кювету добавить **0,2 мл** рабочего раствора тромбина, имеющего комнатную температуру (+18... +25° C) и начать отсчет времени свертывания.

3.3. Используя результаты определения времени свёртывания, по калибровочной кривой определяют концентрацию фибриногена в исследуемом образце плазмы.

### 4. Чтение результатов

Время свертывания исследуемого образца плазмы составляет **4-100 с**, в зависимости от концентрации фибриногена и типа коагулометра. Диапазон определения концентрации фибриногена без дополнительного разведения составляет **0,9-10,0 г/л**. Если результаты определения близки к 0,9 г/л или меньше (отсутствие регистрации сгустка), концентрацию фибриногена следует определить классическим методом Clauss набором реагентов «Тех-Фибриноген-тест» (кат. №094 или кат. №324) или аналогичным с разведением плазмы 1:5.

Концентрация фибриногена у здоровых людей находится в диапазоне от 2,0 до 4,0 г/л.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на выполнение **100 анализов** при расходе раствора тромбина по **0,2 мл** на одно исследование, или **200 анализов** при расходе раствора тромбина по **0,1 мл**. Допускается транспортировка при температуре до +25 °C в течение 30 сут.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности набора (**18 мес**).

Закрытый пробкой раствор тромбина можно хранить до 2-х недель при комн. температуре (+18... +25 °C) и не более месяца при +2...+8 °C. Раствор тромбина при необходимости можно замораживать на срок до 30 сут при температуре (-16... -20 °C).

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.



# МУЛЬТИТЕХ- ФИБРИНОГЕН

## Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации фибриногена (для автоматических коагулометров)

712

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор предназначен для количественного определения содержания фибриногена в плазме крови **на автоматических коагулометрах**, без предварительного разведения исследуемой плазмы.

### Характеристика набора

**Принцип метода** заключается в определении времени свертывания цитратной плазмы избытком тромбина (модифицированный метод Clauss). Время свертывания при этом пропорционально концентрации фибриногена, которую определяют по калибровочному графику.

### Состав набора:

1. **Тромбин** (лиофильно высушенный реагент, 500 ед. NIH) – 2 фл.
2. **Растворитель для тромбина**, 10,5 мл – 2 фл.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения от 0,9 до 10,0 г/л.

Коэффициент вариации результатов определения концентрации фибриногена не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения концентрации фибриногена в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Содержание гепарина в плазме до 1,0 Ед/мл не влияет на результаты определения.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- автоматический коагулометр;
- дозаторы пипеточные на 0,1-0,2, 10,0 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические;
- набор калибраторов «Фибриноген-калибратор» (кат. № 714; производитель ООО фирма «Технология-Стандарт»; заказывается дополнительно).

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение тромбина

В один флакон с тромбином внести **10,0 мл** растворителя для тромбина и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25°C) и перемешивании в течение 5 мин. В результате получают раствор тромбина. Тромбин во втором флаконе разводят по необходимости.

#### 1.2. Разведение калибратора фибриногена

В каждый из пяти флаконов калибраторов фибриногена (заказывается дополнительно) внести по **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и слабом покачивании в течение 15 мин. В результате получают калибраторы с указанной в *Паспорте к набору калибраторов* концентрацией фибриногена.

### 2. Построение калибровочной кривой

Для построения калибровочной кривой необходим набор калибраторов фибриногена «Фибриноген-калибратор» (кат. № 714; заказывается дополнительно). Используя инструкцию для автоматического коагулометра, необходимо определить время свертывания разведённых калибраторов №1, №2, №3, №4 и №5, при этом смешивание реагентов должно быть выполнено коагулометром в следующем порядке: в измерительную кювету добавляется **0,1 мл** калибратора, далее происходит прогрев при температуре +37°C в течение 1 мин и добавляется **0,2 мл** раствора тромбина. По полученным данным, автоматический коагулометр строит калибровочную кривую.

### 3. Проведение анализа

Используя инструкцию для автоматического коагулометра, необходимо определить время свертывания в исследуемом образце, при этом смешивание образца и тромбина должно быть выполнено коагулометром в следующем порядке: в измерительную кювету добавляется **0,1 мл** исследуемой плазмы, после чего происходит инкубация плазмы при температуре +37°C в течение 1 мин, затем добавляется **0,2 мл** раствора тромбина. По полученным данным и результатам определения времени свертывания в калибровочных растворах автоматический коагулометр вычисляет концентрацию фибриногена в исследуемом образце.

### 4. Чтение результатов

Время свертывания исследуемого образца плазмы составляет **4-100 с**, в зависимости от концентрации фибриногена и типа коагулометра. Диапазон определения концентрации фибриногена без дополнительного разведения составляет **0,9- 10,0 г/л**. Если результаты определения близки к 0,9 г/л или меньше (отсутствие регистрации сгустка), концентрацию фибриногена следует определить классическим методом Clausс набором реагентов «Тех-Фибриноген-тест» (кат. № 094 или кат. № 324, производитель ООО фирма «Технология-Стандарт») или аналогичным.

Уровень фибриногена у здоровых людей находится в диапазоне от 2,0 до 4,0 г/л.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на выполнение **100 анализов** при расходе раствора тромбина по **0,2 мл** на одно исследование, или **200 анализов** при расходе раствора тромбина по **0,1 мл**.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8°C в течение всего срока годности набора (**15 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25°C в течение 30 сут.

Закрытый пробкой раствор тромбина можно хранить до 2-х недель при комн. температуре (+18... +25°C) и не более месяца при +2...+8°C. Раствор тромбина при необходимости можно замораживать при температуре -16... -20°C на срок до 1 мес.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Золовкина А.Г., Момот А.П., Мамаев А.Н. Определение концентрации фибриногена в клинической практике. // Поликлиника. Спецвыпуск «Лаборатория ЛПУ», 2012. – №4. – стр. 16-17.с.

# ФИБРИНОГЕН-КАЛИБРАТОР

Инструкция по применению набора калибраторов для определения концентрации фибриногена набором реагентов «МультиТех-Фибриноген»

## Назначение

Набор предназначен для получения калибровочных значений времени свёртывания при определении концентрации фибриногена в плазме крови **модифицированным** методом Clauss без предварительного разведения исследуемой плазмы на **автоматических и полуавтоматических коагулометрах**. Фибриноген-калибратор не предназначен для калибровки других методов определения концентрации фибриногена, в том числе набора «Тех-Фибриноген-тест».

## Характеристика набора

**Принцип метода** заключается в определении времени свертывания цитратной плазмы избытком тромбина (модифицированный метод Clauss). Время свертывания при этом пропорционально концентрации фибриногена, которую определяют по калибровочному графику.

## Состав набора:

1. **Калибратор №1** (лиофильно высушенный), – 1 фл.
2. **Калибратор №2** (лиофильно высушенный), – 1 фл.
3. **Калибратор №3** (лиофильно высушенный), – 1 фл.
4. **Калибратор №4** (лиофильно высушенный), – 1 фл.
5. **Калибратор №5** (лиофильно высушенный), – 1 фл.

Концентрация фибриногена для каждого калибратора указана в *Паспорте к набору*.

## Аналитические характеристики набора

Линейность определения: 0,9-10,0 г/л.

Коэффициент вариации результатов определения концентрации фибриногена при использовании набора калибраторов не превышает 10 %.

714

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

Допустимый разброс результатов определения концентрации фибриногена в одной пробе плазмы наборами калибраторов одной серии не превышает 10 %.

## Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

## Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр;
- дозаторы пипеточные на 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические;
- набор реагентов «МультиТех-Фибриноген» (заказывается дополнительно, кат. № 712 и кат. № 711).

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

В каждый из пяти флаконов калибраторов фибриногена внести по **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25°C) и слабом покачивании в течение 15 мин. В результате получают образцы с указанной в *Паспорте к набору калибраторов* концентрацией фибриногена.

## 2. Проведение анализа

Используя инструкцию для набора реагентов необходимо определить время свертывания разведённых калибраторов №1, №2, №3, №4 и №5.

Для построения калибровочной кривой необходим набор для определения фибриногена «МультиТех-Фибриноген» (заказывается дополнительно).

В зависимости от типа коагулометра существуют два варианта набора реагентов «МультиТех-Фибриноген» для автоматических (кат. № 712) и полуавтоматических (кат. № 711) коагулометров.

## 3. Чтение результатов

Время свертывания калибровочного образца плазмы составляет **5-100 с**, в зависимости от концентрации фибриногена.

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на выполнение не менее **10 калибровочных кривых** при расходе по **0,1 мл** на одно исследование. Однако в большинстве ситуаций рекомендуется дублирование результатов для построения калибровочной кривой.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**15 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

После разведения растворы калибраторов пригодны для построения калибровочной кривой в течение 4 часов при комнатной температуре +18... +25 °С. Разведённые калибраторы не следует замораживать.

## Литература

1. Баркаган Э.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормАТ, 2006. – 208 с.

# ТЕХ-ФИБРИНОГЕН-ТЕСТ

094

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации фибриногена в плазме крови (на 100-200 опр.)

Каталожный  
номер набора

### Назначение

Набор предназначен для быстрого количественного определения содержания фибриногена в плазме крови (хронометрический метод по Clauss) на коагулометре.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении времени свертывания разбавленной цитратной плазмы избытком тромбина. Время свертывания при этом пропорционально концентрации фибриногена, которую определяют по калибровочному графику.

### Состав набора:

1. **Тромбин** (лиофильно высушенный реагент, 500 ед. NIH) – 2 фл.
2. **Растворитель для тромбина**, 10,5 мл – 1 фл.
3. **Контрольная плазма** с известным содержанием фибриногена (лиофильно высушенная), на 1 мл – 1 фл.
4. **Буфер трис-НСl** (концентрированный 20:1 раствор, 1 М), 10 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения от 1,0 до 6,0 г/л (без дополнительных разведений плазмы).

Коэффициент вариации результатов определения концентрации фибриногена не превышает 5 %.

Допустимый разброс результатов определения концентрации фибриногена в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр;
- дозаторы пипеточные на 0,05-0,2, 0,2-1,0 и 5,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- цилиндр мерный вместимостью 200 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

Перед проведением анализа плазма разводится рабочим раствором буфера в 10 раз (0,2 мл плазмы + 1,8 мл рабочего раствора трис-буфера).

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение концентрированного буфера

Содержимое одного флакона с концентрированным буфером трис-HCl перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой **до 200,0 мл**. В результате получают рабочий раствор буфера.

#### 1.2. Разведение тромбина

В один флакон с тромбином внести **5,0 мл** растворителя для тромбина и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и энергичном покачивании в течение 2 мин. В результате получают раствор тромбина. Тромбин во втором флаконе разводят по необходимости.

#### 1.3. Разведение контрольной плазмы и приготовление калибровочных растворов

Во флакон с контрольной плазмой внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и слабым покачивании в течение 3 мин. В результате получают контрольную плазму с указанной в *Паспорте к набору* концентрацией фибриногена.

Разведенную контрольную плазму делят на две равные части, одну из которых замораживают при температуре -16... -20 °C (для возможного повторного приготовления калибровочных растворов), а вторую разводят в соответствии с приведенной в *Паспорте к набору* схемой.

### 2. Построение калибровочной кривой

2.1. В кювету коагулометра внести 0,2 мл раствора №1 (см. *схему в Паспорте к набору*).

2.2. Инкубировать при температуре +37 °C в течение 1 мин.

2.3. В ту же кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора тромбина, имеющего комнатную температуру и начать отсчет времени свертывания.

2.4. Аналогично определить время свертывания с калибровочными растворами №2, №3 и №4.

2.5. По полученным данным построить калибровочную кривую (см. *рисунок*), где по оси ординат отмечают время свертывания (с), а по оси абсцисс – концентрацию фибриногена (г/л) в соответствии с приготовленными разведениями.

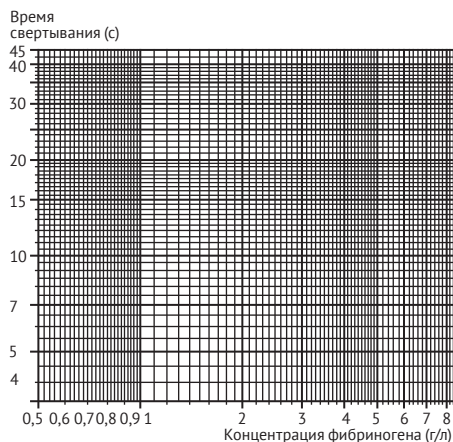


Рис. Координатная сетка для построения калибровочной кривой.

### 3. Проведение анализа

3.1. В кювету коагулометра внести 0,2 мл разведенной (см. *раздел "Приготовление анализируемых образцов"*) исследуемой плазмы.

3.2. Инкубировать при температуре +37 °C в течение 1 мин.<sup>1</sup>

3.3. В ту же кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора тромбина, имеющего комнатную температуру (+18... +25 °C) и начать отсчет времени свертывания.

### 4. Чтение результатов

Обычно время свертывания разведенной исследуемой плазмы составляет **4–40 с**. По калибровочной кривой находят концентрацию фибриногена в исследуемом образце (в диапазоне **0,8–6,0 г/л** для оптических коагулометров и **0,9–6,0 г/л** для коагулометров, работающих на механическом принципе).

Для коагулометра CGL 2110 фирмы СОЛАР (Беларусь) диапазон измеряемых концентраций фибриногена, в связи с конструктивными особенностями прибора, составляет **1,2–5,0 г/л**.

При определении концентрации фибриногена (в разведении плазмы 1+9), близкой к крайним значениям измеряемого диапазона (более 6,0 г/л или менее 0,9 г/л), рекомендуется повторить анализ с другим разведением исследуемого образца плазмы (соответственно 1+19 или 1+4). Далее, полученный по калибровочной кривой результат соответственно уменьшают или увеличивают в 2 раза.

<sup>1</sup> Инкубацию проводят в термостате коагулометра

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на выполнение **100-200 анализов** при расходе раствора тромбина по 0,1-0,05 мл на 1 определение содержания фибриногена.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25°С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 1 неделю с момента вскрытия его компонентов.

Раствор тромбина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 3 дней; не замораживать.

Растворитель для тромбина после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 недели; не замораживать.

Контрольную плазму после разведения можно хранить при комнатной температуре не более 3 ч или не более 1 недели при температуре -16... -20 °С.

Рабочий раствор буфера можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

# ТЕХ-ФИБРИНОГЕН-ТЕСТ

**324**Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации фибриногена в плазме крови (на 30-60 опр.)

Каталожный  
номер набора

### Назначение

Набор предназначен для быстрого количественного определения содержания фибриногена в плазме крови (хронометрический метод по Clauss) на коагулометре.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении времени свертывания разбавленной цитратной плазмы избытком тромбина. Время свертывания при этом пропорционально концентрации фибриногена, которую определяют по калибровочному графику.

### Состав набора:

1. **Тромбин** (лиофильно высушенный реагент, 150 ед. NIH) – 2 фл.
2. **Растворитель для тромбина**, 3,5 мл – 1 фл.
3. **Контрольная плазма** с известным содержанием фибриногена (лиофильно высушенная), на 1 мл – 1 фл.
4. **Буфер трис-HCl** (концентрированный 20:1 раствор, 1 M), 5 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения от 1,0 до 6,0 г/л (без дополнительных разведений плазмы). Коэффициент вариации результатов определения концентрации фибриногена не превышает 5 %.

Допустимый разброс результатов определения концентрации фибриногена в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых

концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр;
- дозаторы пипеточные на 0,05-0,2, 0,2-1,0 и 5,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- цилиндр мерный вместимостью 200 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

Перед проведением анализа плазма разводится рабочим раствором буфера в 10 раз (0,2 мл плазмы + 1,8 мл рабочего



раствора трис-буфера).

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение концентрированного буфера

Содержимое одного флакона с концентрированным буфером трис-HCl перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой **до 100 мл**. В результате получают рабочий раствор буфера.

#### 1.2. Разведение тромбина

В один флакон с тромбином внести **1,5 мл** растворителя для тромбина и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и энергичном покачивании в течение 2 мин. В результате получают раствор тромбина. Тромбин во втором флаконе разводят по необходимости.

#### 1.3. Разведение контрольной плазмы и приготовление калибровочных растворов

Во флакон с контрольной плазмой внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и слабом покачивании в течение 3 мин. В результате получают контрольную плазму с указанной в *Паспорте к набору* концентрацией фибриногена.

Разведенную контрольную плазму делят на две равные части, одну из которых замораживают при температуре -16... -20 °C (для возможного повторного приготовления калибровочных растворов), а вторую разводят в соответствии с приведенной в *Паспорте к набору* схемой.

### 2. Построение калибровочной кривой

2.1. В кювету коагулометра внести 0,2 мл раствора №1 (см. схему в *Паспорте к набору*).

2.2. Инкубировать при температуре +37 °C в течение 1 мин.

2.3. В ту же кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора тромбина, имеющего комнатную температуру и начать отсчет времени свертывания.

2.4. Аналогично определить время свертывания с калибровочными растворами №2, №3 и №4.

2.5. По полученным данным построить калибровочную кривую (см. рисунок), где по оси ординат отмечают время свертывания (с), а по оси абсцисс – концентрацию фибриногена (г/л) в соответствии с приготовленными разведениями.

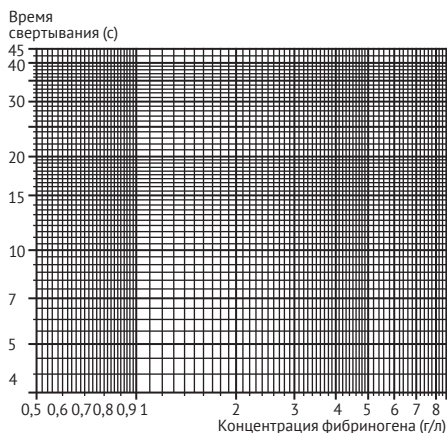


Рис. Координатная сетка для построения калибровочной кривой.

### 3. Проведение анализа

3.1. В кювету коагулометра внести 0,2 мл разведенной (см. раздел "Приготовление анализируемых образцов") исследуемой плазмы.

3.2. Инкубировать при температуре +37 °C в течение 1 мин.<sup>1</sup>

3.3. В ту же кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора тромбина, имеющего комнатную температуру (+18... +25 °C) и начать отсчет времени свертывания.

### 4. Чтение результатов

Обычно время свертывания разведенной исследуемой плазмы составляет **4–40 с**. По калибровочной кривой находят концентрацию фибриногена в исследуемом образце (в диапазоне **0,8–6,0 г/л** для оптических коагулометров и **0,9–6,0 г/л** для коагулометров, работающих на механическом принципе).

Для коагулометра CGL 2110 фирмы СОЛАР (Беларусь) диапазон измеряемых концентраций фибриногена, в связи с конструктивными особенностями прибора, составляет **1,2–5,0 г/л**.

При определении концентрации фибриногена (в разведении плазмы 1+9), близкой к крайним значениям измеряемого диапазона (более 6,0 г/л или менее 0,9 г/л), рекомендуется повторить анализ с другим разведением исследуемого образца плазмы (соответственно 1+19 или 1+4). Далее, полученный по калибровочной кривой результат соответственно уменьшают или увеличивают в 2 раза.

<sup>1</sup> Инкубацию проводят в термостате коагулометра

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на выполнение **30-60 анализов** при расходе раствора тромбина по 0,1-0,05 мл на 1 определение содержания фибриногена.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 1 неделю с момента вскрытия его компонентов.

Раствор тромбина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 3 дней; не замораживать.

Растворитель для тромбина после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 недели; не замораживать.

Контрольную плазму после разведения можно хранить при комнатной температуре не более 3 ч или не более 1 недели при температуре -16... -20 °С.

Рабочий раствор буфера можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

# ТЕХ-ФИБРИНОГЕН-ТЕСТ

**Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации фибриногена (на 100-200 опр., без контрольной плазмы)**

225

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Назначение

Набор предназначен для быстрого количественного определения содержания фибриногена в плазме крови (хронометрический метод по Clauss) на коагулометре.

## Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении времени свертывания разбавленной цитратной плазмы избытком тромбина. Время свертывания при этом пропорционально концентрации фибриногена, которую определяют по калибровочному графику.

## Состав набора:

1. **Тромбин** (лиофильно высушенный реагент, 500 ед. NIH) – 2 фл.
2. **Растворитель для тромбина**, 10,5 мл – 1 фл.
3. **Буфер трис-НСl** (концентрированный 20:1 раствор, 1 М), 10 мл – 1 фл.

Контрольная плазма плазма в состав набора данной комплектации не входит.

Для построения калибровочной кривой может быть использована коммерческая калибровочная нормальная плазма, аттестованная по уровню фибриногена.

## Аналитические характеристики набора

Линейность определения от 1,0 до 6,0 г/л (без дополнительных разведений плазмы).

Коэффициент вариации результатов определения концентрации фибриногена не превышает 5 %.

Допустимый разброс результатов определения концентрации фибриногена в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

## Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000). Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

## Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр;
- дозаторы пипеточные на 0,05-0,2, 0,2-1,0 и 5,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- цилиндр мерный вместимостью 200 мл;
- вода дистиллированная;
- образец плазмы, аттестованный по уровню фибриногена;
- перчатки резиновые хирургические.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1.

Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования. Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

Перед проведением анализа плазма разводится буфером в 10 раз (0,2 мл плазмы + 1,8 мл трис-буфера).

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение концентрированного буфера

Содержимое одного флакона с концентрированным буфером трис-НСІ перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой **до 200 мл**. В результате получают рабочий раствор буфера.

#### 1.2. Разведение тромбина

В один флакон с тромбином внести **5,0 мл** растворителя для тромбина и растворить содержимое при комнатной температуре и энергичном покачивании в течение 2 мин. В результате получают раствор тромбина. Тромбин во втором флаконе разводят по необходимости.

#### 1.3. Приготовление калибровочных растворов

Образец плазмы, аттестованный по уровню фибриногена, разводят в соответствии с приведенной в Паспорте к набору схемой (пример схемы разведений представлен для уровня фибриногена 2,6 г/л).

### 2. Построение калибровочной кривой

2.1. В кювету коагулометра внести 0,2 мл раствора 1 (см. схему в Паспорте к набору).

2.2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

2.3. В ту же кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора тромбина, имеющего комнатную температуру и начать отсчет времени свертывания.

2.4. Аналогично определить время свертывания со 2, 3 и 4 калибровочным раствором.

2.5. По полученным данным построить калибровочную кривую (см. рисунок), где по оси ординат отмечают время свертывания (с), а по оси абсцисс – концентрацию фибриногена (г/л) в соответствии с приготовленными разведениями. В Паспорте к набору представлен пример значений оси абсцисс при концентрации фибриногена в стандартном образце плазмы 2,6 г/л.

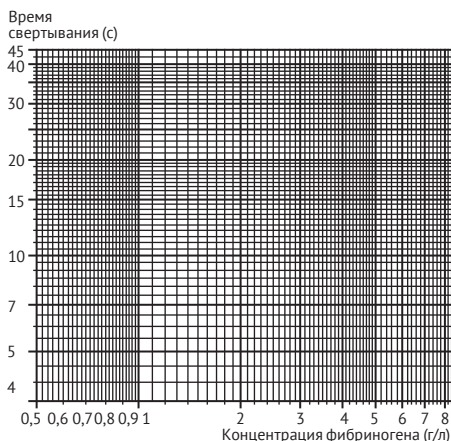


Рис. Координатная сетка для построения калибровочной кривой.

### 3. Проведение анализа

3.1. В кювету коагулометра внести 0,2 мл разведенной (см. раздел “Приготовление анализируемых образцов”) исследуемой плазмы.

3.2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.<sup>1</sup>

3.3. В ту же кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора тромбина, имеющего комнатную температуру (+18... +25 °С) и начать отсчет времени свертывания.

### 4. Чтение результатов

Обычно время свертывания разведенной исследуемой плазмы составляет **4-40 с**. По калибровочной кривой находят концентрацию фибриногена в исследуемом образце (в диапазоне **0,8-6,0 г/л** для оптических коагулометров и **0,9-6,0 г/л** для коагулометров, работающих на механическом принципе).

Для коагулометра CGL 2110 фирмы СОЛАР (Беларусь) диапазон измеряемых концентраций фибриногена, в связи с конструктивными особенностями прибора, составляет **1,2-5,0 г/л**.

При определении концентрации фибриногена (в разведении плазмы 1+9), близкой к крайним значениям измеряемого диапазона (более 6,0 г/л или менее 0,9 г/л), рекомендуется повторить анализ с другим разведением исследуемого образца плазмы (соответственно 1+19 или 1+4). Далее, полученный по калибровочной кривой результат соответственно уменьшают или увеличивают в 2 раза.

<sup>1</sup> Инкубацию проводят в термостате коагулометра

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на выполнение **100-200 анализов** при расходе раствора тромбина по 0,1-0,05 мл на 1 определение.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25°С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 1 неделю с момента вскрытия его компонентов.

Раствор тромбина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 3 дней; не замораживать.

Растворитель для тромбина после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 недели; не замораживать.

Рабочий раствор буфера можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

# ХРОМОТЕХ- АНТИТРОМБИН

733

Только для  
*in vitro*  
диагностики

Каталожный  
номер набора

# Инструкция по применению набора реагентов для определения антитромбина на автоматических коагулометрах

### Назначение

Набор «ХромоТех-Антитромбин» предназначен для определения активности (в процентах от нормы) физиологического антикоагулянта – антитромбина (АТ) на автоматических коагулометрах. Определение АТ используют при диагностике ДВС-синдрома и гематогенных тромбофилий, контроле за лечением этих состояний.

Набор предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** АТ разведенной исследуемой плазмы в присутствии гепарина быстро инактивирует тромбин. Скорость гидролиза нитроанилиновой связи хромогенного субстрата зависит от активности антитромбина. Автоматический коагулометр регистрирует изменение оптической плотности при длине волны 405 нм с течением времени.

$$\begin{array}{ccc} \text{AT III (образец)} & \xrightarrow{\text{гепарин}} & \text{AT III-тромбин} \\ + & & + \\ \text{Тромбин (избыток)} & & \text{Тромбин (остаток)} \end{array}$$
$$\text{z-Ala-Ala-Arg-pNA.HBr} \xrightarrow{\text{Тромбин (остаток)}} \text{z-Ala-Ala-Arg-OH(HBr)} + \text{pNA}$$

### Состав набора:

1. Хромогенный субстрат (лиофильно высушенный), на 5 мл – 3 фл.
2. Тромбин (лиофильно высушенный), – 3 фл.
3. Плазма-калибратор (лиофильно высушенная), на 1 мл – 3 фл.
4. Растворитель для тромбина, 10 мл – 3 фл.

## Аналитические характеристики набора

Линейность определения активности АТ – в диапазоне от 5 до 140 %, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Тест на «открытие» – не более 10 % отклонения.

Чувствительность определения – не более 5 %.

Коэффициент вариации результатов определения активности АТ не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения активности АТ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

## Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны и проверены на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы  
дезинфицировать в соответствии  
с требованиями МУ 287-113  
«Методические указания по дезинфекции,  
предстерилизационной очистке и стерилиза-  
ции изделий медицинского назначения».

## Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр автоматический;
- центрифуга лабораторная;
- физиологический (0,15 М) раствор хлорида натрия;
- дозаторы на 1,0 мл и 1,0-10,0 мл.
- вода дистиллированная;
- пробирки;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки и полученной более 2 ч назад. Допускается замораживание образцов при -16... -70 °C на срок до 1 мес.

Дополнительное разведение плазмы для исследования проводится физиологическим (0,15 М) раствором хлорида натрия на борту коагулометра автоматически.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение хромогенного субстрата

Во флакон с хромогенным субстратом (далее по тексту – субстратом) внести **5,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и периодическом покачивании в течение 5 мин. В результате получают раствор субстрата.

#### 1.2. Разведение тромбина

Во флакон с тромбином добавить указанный в паспорте к набору объем растворителя для тромбина и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком

покачивании в течение 2 мин. В результате получают раствор тромбина, который перед использованием должен быть выдержан при комнатной температуре (+18... +25 °C) не менее 20 мин.

### 1.3. Разведение плазмы-калибратора

Во флакон с плазмой-калибратором внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком по-качивании в течение 3 мин.

Разведенную плазму-калибратор разлить по 0,5 мл в 2 герметично закрывающихся стеклянных силиконированных или пластиковых контейнера (флакона) и заморозить при температуре -16... -70 °C.

Порцию свежей или размороженной (на водяной бане при температуре +37 °C) плазмы-калибратора следует использовать для получения контрольных показателей поглощения в день проведения исследования.

В случае необходимости может дополнительно использоваться плазма-калибратор, аттестованная по данному показателю (заказывается дополнительно).

Активность антитромбина в плазме-калибраторе указана в паспорте к набору реагентов.

### 2. Проведение анализа

Коагулометр в автоматическом режиме смешивает разведенную исследуемую плазму с растворами тромбина и хромогенного субстрата, после чего регистрирует изменение оптической плотности и рассчитывает активность антитромбина.

Описание и настройки представлены в инструкции производителя автоматического коагулометра.

### 3. Чтение результатов

Результаты анализа выражают в процентах к норме.

В нормальной плазме активность антитромбина составляет **75-140%**.

### 4. Внутрिलाбораторный контроль качества

При осуществлении внутрिलाбораторного контроля качества рекомендуется использовать реагент с нормальным диапазоном значений «Тех-контроль Н» (кат. № 776), а также реагент с патологическим диапазоном значений «Тех-контроль П» (кат. № 777).

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение не менее **250 определений** (число анализов зависит от модели автоматического коагулометра).

Набор необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Время использования набора не должно превышать 1 мес с момента вскрытия его компонентов.

Раствор субстрата можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 5 дней или при температуре +2... +8 °С – не более 2-х недель в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается однократное замораживание при температуре -16... -70 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Раствор тромбина можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 5 ч, после чего хранение продолжается при температуре +2... +8 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Такой режим чередования температур хранения реагента допускается в течение 4 суток. Допускается однократное замораживание при температуре -16... -70 °С не более 1 мес. в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Разведённую плазму-калибратор можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 6 ч или не более 5 дней при температуре +2... +8 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается однократное замораживание при температуре -16... -70 °С на срок не более 1 мес в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Не следует смешивать рабочие реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «ХромоТех-Антитромбин», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Мамаев А.Н., Макаров В.А., Воюшина Т.Л., Неведрова О.А., Шилова А.Н., Зяблицкая Н.К. Новый метод определения антитромбина III и его диагностическое значение // Клиническая лабораторная диагностика. – № 7. – 2004. – С. 18-21.
3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
4. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).



# ХРОМОТЕХ- АНТИТРОМБИН

192

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации антитромбина в плазме крови

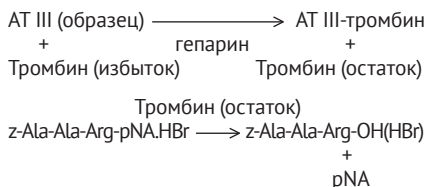
Каталожный  
номер набора

### Назначение

Набор **ХромоТех-Антитромбин** предназначен для определения концентрации (в процентах от нормы) физиологического антикоагулянта антитромбина III (AT III). Определение AT III используют для диагностики ДВС-синдрома и гематогенных тромбофилий, контроля за лечением этих состояний с использованием гепарина и препаратов крови.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** AT III разведенной исследуемой плазмы в присутствии гепарина быстро инактивирует тромбин. Остаточная активность тромбина определяется по скорости гидролиза хромогенного субстрата фотометрически. Регистрируют изменение оптической плотности (поглощения) на фотометре при длине волны 405 нм после добавления уксусной кислоты (двухточечный метод).



### Состав набора:

1. **Хромогенный субстрат** (лиофильно высушенный), 9 мг – 2 фл.
2. **Тромбин** (лиофильно высушенный), 500 ед. NIH – 1 фл.
3. **Буфер трис-HCl с гепарином**, 3,5 мл – 1 фл.

**Примечание:** объем буфера в составе набора рассчитан на проведение до 60 определений. Для проведения большего числа определений (до 300, см. п. 2) необходима дополнительная поставка 2-4 флаконов данного реагента (кат. № 343).

4. **Контрольная плазма** с известным содержанием AT III (лиофильно высушенная), на 1 мл – 2 фл.
5. **Растворитель для тромбина**, 10 мл – 3 фл.

6. **Кювета** с уменьшенной ёмкостью (на 1 мл), позволяющая сократить расход реагентов при определении на фотометрах с объёмом кюветы более 2-х мл (СФ-26, СФ-46 и др.) – 1 шт.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения концентрации AT III – в диапазоне от 10 до 130 %.

Коэффициент вариации результатов определения концентрации AT III не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения концентрации AT III в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2a (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- физиологический (0,15 М) раствор хлорида натрия;
- уксусная кислота, 30 % раствор;
- фотометр с термостатом, например, RA-50 (Bayer Diagnostics). Используемая длина волны – 405 нм при ширине оптического пути кюветы не менее 1 см;
- секундомер;

- пипетки вместимостью 50 мкл, 0,5 и 1,0-10,0 мл;
- пробирки;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, пригодную для исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки и полученной более 2 ч назад. Допускается замораживание образцов при -16... -20 °С на срок до 1 мес.

## Приготовление разведенной исследуемой плазмы.

Перед проведением анализа 0,05 мл исследуемой плазмы в пробирке смешать с 3,0 мл физиологического раствора хлорида натрия и 0,05 мл буфера трис-НСl с гепарином.

**Приготовление Бланк-разведения:** к 0,05 мл буфера трис-НСl с гепарином добавить 3,05 мл физиологического раствора хлорида натрия.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение хромогенного субстрата

Во флакон с хромогенным субстратом (далее по тексту – субстратом) внести 7,5 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при температуре +37 °С) и периодическом покачивании в течение 30 мин. В результате получают раствор субстрата.

#### 1.2. Разведение тромбина

Во флакон с тромбином добавить 10,0 мл физиологического раствора хлорида натрия и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 2 мин. В результате получают маточный раствор тромбина, который перед использованием должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 30-40 мин.

Разведение рабочего раствора тромбина: к 0,1 мл маточного раствора тромбина

добавить указанный в *Паспорте к набору* объём растворителя для тромбина.

### 1.3. Разведение контрольной плазмы

Во флакон с контрольной плазмой внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин.

Контрольную плазму разлить по 0,1 мл в 9-10 герметично закрывающихся стеклянных силиконированных или пластиковых флаконов и заморозить при температуре -16... -20 °С.

Порцию свежей или размороженной (на водяной бане при температуре +37 °С) контрольной плазмы (в объеме 50 мкл) использовать для получения контрольных показателей поглощения в день проведения исследования.

Концентрация АТ III в контрольной плазме указана в *Паспорте к набору реагентов*.

## 2. Проведение анализа

	Исследуемый образец плазмы	Контрольные значения активности тромбина (КЗАТ)
--	----------------------------	---

*Пипеткой внести в пробирку:*

Бланк-разведение	-	0,25 мл
------------------	---	---------

Разведенную исследуемую плазму	0,25 мл	-
--------------------------------	---------	---

Рабочий раствор тромбина	0,25 мл	0,25 мл
--------------------------	---------	---------

*Перемешать и инкубировать при температуре +37°С в течение 3 мин.*

Добавить хромогенный субстрат	0,25 мл	0,25 мл
-------------------------------	---------	---------

Через 120 секунд внести 30 % раствор уксусной кислоты, перемешать	0,5 мл	0,5 мл
---	--------	--------

*Через 5-10 мин после внесения раствора уксусной кислоты определить поглощение (А) при длине волны 405 нм исследуемого образца плазмы против физиологического раствора хлорида натрия.*

В день проведения исследования анализы контрольной плазмы и контроля (бланка) выполняются однократно вне зависимости от количества образцов исследуемой плазмы.

Описание хода определения дано для работы на спектрофотометрах и фотометрах, где кювета (с величиной оптического пути 1 см) имеет вместимость 1,0-1,5 мл. В этом случае набор ХромоТех-Антитромбин рассчитан на **60 определений**. При работе с фотометрами, объем кюветы которых 0,5-0,7 мл, возможно выполнение с данным набором реагентов **до 120 определений**. При этом объем смешиваемых образцов и реагентов следует уменьшить в 2 раза.

При проведении анализа в микрокюветах (общий объем смешиваемых реагентов – 0,20-0,25 мл), расход каждого из реагентов кратно уменьшается в 10 раз, соответственно **число определений увеличивается до 300**.

### 3. Чтение результатов

Результаты анализа выражают в процентах к норме. Концентрацию АТ III вычисляют по формулам:

$$AT\ III, (\%) = (A_{KЗAT} - A_{образца}) \times ФП;$$

$$ФП, \% = \frac{AT\ III_{контрольной\ плазмы} (\%)}{A_{KЗAT} - A_{контрольной\ плазмы}},$$

где:  $A_{KЗAT}$  – поглощение (оптическая плотность) в пробе с контрольным значением активности тромбина;  $A_{образца}$  – поглощение (оптическая плотность) в исследуемом образце плазмы больного; **ФП** – фактор пересчета;  $AT\ III_{контрольной\ плазмы} (\%)$  – известное содержание АТ III в контрольном образце плазмы;  $A_{контрольной\ плазмы}$  – поглощение (оптическая плотность) в контрольном образце плазмы.

В нормальной плазме концентрация АТ III составляет **75-140 %**.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **60-300 определений**.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание набора не допускается.

Время использования набора не должно превышать 1 мес с момента вскрытия его компонентов.

Раствор хромогенного субстрата можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 5 дней или при температуре +2... +8 °С – не более 2-х недель.

Маточный раствор тромбина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес или не более 3 мес – в замороженном состоянии при температуре -16... -20 °С.

Рабочий раствор тромбина можно хранить при комнатной температуре не более 3 ч или температуре +2... +8 °С не более 1 дня. Не замораживать.

Разведённую контрольную плазму можно хранить при комнатной температуре не более 3 ч или не более 2 недель в замороженном состоянии при температуре -16... -20 °С.

Вскрытые флаконы буфера трис-НСI с гепарином и растворителем для тромбина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Мамаев А.Н., Макаров В.А., Воюшина Т.Л., Неведрова О.А., Шилова А.Н., Зяблицкая Н.К. Новый метод определения антитромбина III и его диагностическое значение // Клиническая лабораторная диагностика. – № 7. – 2004. – С. 18-21.
3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ХРОМОТЕХ- ПРОТЕИН С

## Инструкция по применению набора реагентов для определения протеина С

### Назначение

Набор «ХромоТех-Протеин С» предназначен для определения активности протеина С в плазме крови на автоматических коагулометрах или фотометре.

Протеин С — один из наиболее важных физиологических антикоагулянтов, синтезирующийся в печени при участии витамина К. В активной форме он разрушает коагуляционные факторы свёртывания VIIIa и Va. Наследственный дефицит протеина С приводит к тромбозам и тромбозмоболиям. У новорожденных с дефицитом протеина С возможно развитие фульминантной пурпury.

Набор предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Под влиянием специфического активатора протеин С приобретает способность разрушать хромогенный субстрат. Для вычисления активности протеина С определяют динамику изменения оптической плотности исследуемых образцов при 405 нм.

### Состав набора:

1. **Активатор протеина С** (лиофильно высушенный), на 5 мл — 3 фл.
2. **Хромогенный субстрат** (лиофильно высушенный), на 3 мл — 1 фл.
3. **Растворитель для активатора протеина С**, 5 мл — 3 фл.
4. **Плазма-калибратор** (лиофильно высушенная), на 1 мл — 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения протеина С — в диапазоне от 5 до 140 %, отклонение от «линейности» — не более 10 %.

Тест на «открытие» — не более 10 % отклонения.

Чувствительность определения — не более 5 %.

**761**

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

Коэффициент вариации полученных результатов не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения протеина С в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора — класс 2a (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны и проверены на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- Автоматический коагулометр или фотометр;
- секундомер;
- водяная баня или термостат на +37 °С;
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,05 мл, 1-10 мл;
- пробирки пластиковые или стеклянные;

- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия — 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 г в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование — сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, признаки гемолиза и полученной более 2 ч назад. Допускается замораживание образцов при -16... -70 °C на срок до 1 мес.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение активатора протеина С

В один из флаконов с активатором протеина С внести **5,0 мл** растворителя и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) в течение 5 мин.

#### 1.2. Разведение хромогенного субстрата

Во флакон с хромогенным субстратом добавить **3,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре в течение 5 мин.

#### 1.3. Разведение плазмы-калибратора

Во флакон с плазмой-калибратором внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре в течение 10 мин.

### 2. Проведение анализа

#### На автоматическом коагулометре:

Коагулометр в автоматическом режиме смешивает исследуемую плазму с раствором активатора протеина С и хромогенного субстрата, после чего регистрирует изменение оптической плотности и рассчитывает активность протеина С.

Описание и настройки представлены в инструкции производителя автоматического коагулометра.

#### На фотометре:

1. Установить длину волны — 405 нм, взять кювету с длиной оптического пути — 1 см, установить «0» по дистиллированной воде.
2. К 0,05 мл плазмы-калибратора или исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,5 мл раствора активатора протеина С. Смесь встряхнуть и инкубировать при температуре +37 °C в течение 5 мин.
3. После инкубации к смеси добавить 0,1 мл хромогенного субстрата\*, перемешать в течение 5-10 с и определить динамику изменения оптической плотности в течение 120 с. Учитывать результат изменения оптической плотности за минуту (А/мин).

#### Примечание:

\* В зависимости от используемой кюветы объемы плазмы и реагентов могут быть уменьшены, но при этом необходимо сохранить соотношение объемов, указанных в данной инструкции.

### 3. Чтение результатов

Определить коэффициент пересчета, используя формулу:

$$K = \frac{PC \% (\text{плазмы-калибратора})}{\Delta A / \text{мин} (\text{плазмы-калибратора})}$$

где:

**K** — коэффициент пересчета;

**PC % (плазмы-калибратора)** — активность протеина С в плазме-калибраторе в процентах (см. паспорт к набору);

**$\Delta A / \text{мин}$  (плазмы-калибратора)** — результат изменения оптической плотности плазмы-калибратора за минуту (А/мин).

Активность протеина С в исследуемой плазме определить по формуле:

$$PC \% (\text{иссл. плазмы}) = K \times \Delta A / \text{мин} (\text{иссл. плазмы}),$$

где:

**PC % (иссл. плазмы)** — активность протеина С в исследуемом образце в процентах (см. паспорт к набору);

**K** — коэффициент пересчета;

**Δ A/ мин (иссл. плазмы)** — результат изменения оптической плотности исследуемой плазмы за минуту (A/мин).

У здоровых людей активность протеина С в плазме составляет **70–140 %** от нормы.

#### 4. Внутрिलाбораторный контроль качества

При осуществлении внутрिलाбораторного контроля качества рекомендуется использовать реагент с нормальным диапазоном значений «Тех-контроль Н» (кат. № 776), а также реагент с патологическим диапазоном значений «Тех-контроль П» (кат. № 777).

#### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **30-100 определений** в зависимости от методики определения.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание не допускается.

Растворы активатора протеина С и хромогенного субстрата хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более суток, при температуре +2... +8 °С — не более 7 дней в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается однократное замораживание при -16... -70 °С и хранение в течение месяца в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Плазму-калибратор можно хранить при комнатной температуре не более 3 ч, при температуре +2... +8 °С — не более 8 ч или не более месяца в замороженном состоянии при температуре -16... -70 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Не следует смешивать рабочие реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи

с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «ХромоТех-Протеин С», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

#### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. — 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинко-лабораторной диагностики. — СПб.: Формат, 2006. — 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХ-АНТИТРОМБИН-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения активности антитромбина III (принцип U. Abildgaard в модификации А.П. Момота и А.Н. Мамаева)

688

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор предназначен для определения активности анти-тромбина III (АТ III) при диагностике врожденного или приобретенного дефицита этого антикоагулянта, диагностики ДВС-синдрома и контроля за его лечением с применением компонентов крови.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** АТ III из плазмы, подвергнутой тепловому дефибринированию, инактивирует  $\alpha$ -тромбин. Тестируют остаточную активность тромбина через 2 мин от начала инкубации дефибринированной плазмы с тромбином. По времени свёртывания оценивается активность АТ III образца. Активность АТ III, выраженную в процентах к норме, находят по калибровочной кривой.

### Состав набора:

1. **Буфер для разведений** (концентрированный 20:1 раствор, pH 7,4), 5 мл – 1 фл.
2. **Стандарт-плазма** (лиофильно высушенная) – 2 фл.
3. **Тромбин** (лиофильно высушенный, 150 ед. NIH) – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения активности АТ III не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения активности АТ III в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как

потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- термобаня на +56 °С;
- коагулометр, при отсутствии коагулометра секундомер и термобаня на +37 °С;
- пипетки вместимостью 0,1 мл, 0,5 мл, 0,2–1,0 мл, 3,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- цилиндр мерный вместимостью 100 мл;
- контрольная бедная тромбоцитами цитратная плазма (для тестирования остаточной активности тромбина – см. *Подготовка реагентов к работе, п. 1.2*);
- физиологический (0,9%) раствор натрия хлорида;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

**Забор крови и получение исследуемой плазмы.** Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.



**Приготовление дефибринированной плазмы (исследуемой и стандарт-плазмы).**  
В пробирку внести 1,0 мл исследуемой плазмы. Затем поместить пробирку в водяную баню и дефибринировать при температуре +56 °С в течение 6 мин. После дефибрикации образцы плазмы необходимо центрифугировать при 3000 об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость извлекают и исследуют.

**Перед проведением анализа** надосадочная жидкость разводится рабочим раствором буфера в 2 раза (**0,5 мл** дефибринированной плазмы + **0,5 мл** рабочего раствора буфера).

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение буфера

Содержимое флакона с концентрированным буфером перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой до **100 мл**. В результате получают рабочий раствор буфера, который хранят в закрытом флаконе при температуре +2... +8 °С до 3 недель.

#### 1.2. Плазма для тестирования остаточной активности тромбина.

В комплект набора не входит. Получают от здоровых людей по описанному выше способу (см. *Приготовление анализируемых образцов*). Перед использованием плазма разводится рабочим раствором буфера в соотношении 1:1. С этой же целью допускается использование свеже-приготовленного раствора фибриногена с концентрацией коагулирующего белка 3,0-4,0 г/л.

#### 1.3. Разведение стандарт-плазмы и приготовление калибровочных растворов

Во флакон со стандарт-плазмой внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. В результате получают стандарт-плазму с активностью АТ III, равной 100 %.

Разведенную стандарт-плазму подвергают дефибринированию, как указано выше. Затем из нее готовят разведения для построения калибровочной кривой в соответствии с таблицей:

Номер раствора	Стандарт-плазма и ее разведения	+	Буфер	Раз-ведение	Актив-ность АТ III
1	0,2 мл	+	0,2 мл	1 : 2	100 %
2	0,2 мл	+	0,4 мл	1 : 4	50 %
3	0,1 мл	+	0,4 мл	1 : 8	25 %

### 1.4. Разведение тромбина

1. Во флакон с тромбином внести **3,0 мл** физиологического раствора натрия хлорида и развести содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 2-3 мин. В результате получают маточный раствор тромбина.

2. Для приготовления рабочего раствора тромбина в день проведения исследования смешать в пробирке один объем маточного раствора тромбина с указанным в *Паспорте к набору* объемом рабочего раствора буфера.

#### Проверка активности рабочего раствора тромбина:

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести **0,1 мл** плазмы калибровочного раствора № 1 (см. *Таблицу – приготовление калибровочных разведений плазмы*) и **0,1 мл** рабочего раствора тромбина.

2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 2 мин (точно).

3. Добавить **0,1 мл** плазмы для тестирования остаточной активности тромбина, имеющей комнатную температуру, и начать отсчет времени свертывания.

Полученный рабочий раствор тромбина должен иметь активность **35-45 с**. В случае необходимости к рабочему раствору тромбина добавить небольшое количество рабочего раствора буфера или маточного раствора тромбина для получения требуемой активности последнего.

Рабочий раствор тромбина для сохранения активности рекомендуется готовить в пластиковой пробирке, не прогревать при температуре +37 °С и хранить при комнатной температуре не более 2 ч или не более 6 ч при температуре +2... +8 °С.

#### 2. Построение калибровочной кривой

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести **0,1 мл** калибровочного раствора № 1 и **0,1 мл** рабочего раствора тромбина.

2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 2 мин (точно).

3. Добавить **0,1 мл** плазмы для тестирования остаточной активности тромбина, имеющей комнатную температуру, и начать отсчет времени свертывания.

4. Аналогично определить время свертывания в калибровочных растворах № 2 и № 3.

Определения рекомендуется проводить дважды с каждым разведением стандарт-плазмы.



По полученным средним (из двух определений) данным построить калибровочную кривую, где по оси ординат отмечают время свертывания (с), а по оси абсцисс – активность АТ-III (%) в соответствии с калибровочными растворами стандарт-плазмы.

Для построения калибровочной кривой могут быть использованы коммерческие образцы плазмы, аттестованные по активности АТ-III.

### 3. Проведение анализа

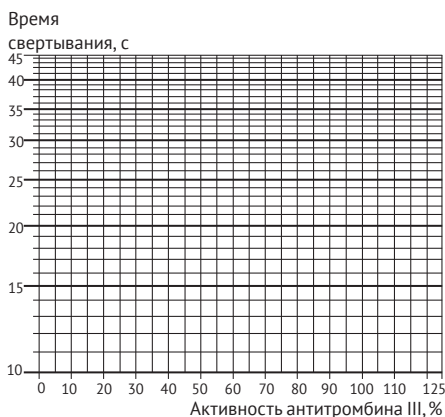
1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести **0,1 мл** разведенной рабочим раствором буфера дефибринированной исследуемой плазмы и **0,1 мл** рабочего раствора тромбина.

2. Инкубировать при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 2 мин (точно).

3. Добавить **0,1 мл** плазмы для тестирования остаточной активности тромбина, имеющей комнатную температуру, и начать отсчет времени свертывания.

Время свертывания (в с) переводят в активность АТ III (в %) по калибровочному графику.

Система координат для построения калибровочной кривой приведена на рисунке.



**Рис. Координатная сетка для определения активности АТ III.**

### 4. Чтение результатов

В норме прогрессивная активность АТ III составляет **80-120%**. При ряде вариантов наследственной тромбофилии, а также в процессе развития острого ДВС-синдрома, при лечении L-аспарагиназой, поздних

гестозах, приеме эстрогенсодержащих противозачаточных средств, тяжелых поражениях печени, активность АТ III в плазме часто снижается. Последнее может наступить и при длительном применении больших доз гепарина.

С другой стороны, при дефиците и определенных аномалиях АТ III, являющегося плазменным кофактором гепарина, антикоагулянтный эффект гепарина ослабляется. Поэтому при всех перечисленных патологических состояниях и лекарственных воздействиях необходим контроль за активностью АТ III в плазме. Гепарин в концентрации до 1,0 ед/мл не влияет на результаты исследования.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **120-240 определений** при расходе тромбина по 0,1-0,05 мл на 1 определение.

Хранение набора должно проводиться при температуре  $+2... +8^{\circ}\text{C}$  в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до  $+25^{\circ}\text{C}$  в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 3-х недель с момента вскрытия его компонентов.

Маточный раствор тромбина можно хранить при температуре  $+2... +8^{\circ}\text{C}$  не более 3 недель.

Рабочий раствор тромбина можно хранить при комнатной температуре ( $+18... +25^{\circ}\text{C}$ ) не более 3 ч или не более 6 ч при температуре  $+2... +8^{\circ}\text{C}$ .

Стандарт-плазму после разведения можно хранить при комнатной температуре не более 3 ч.

Рабочий раствор буфера можно хранить при температуре  $+2... +8^{\circ}\text{C}$  не более 3 недель.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ПАРУС-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения нарушений в системе протеина С

### Назначение

Набор Парус-тест предназначен для скрининга нарушений в системе протеина С. Тест определяет сочетанный или изолированный дефицит протеинов С и S, а также резистентность фактора V к активированному протеину С.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Протеин С – витамин К-зависимый гликопротеин, который синтезируется в печени и циркулирует в крови в виде профермента. Под действием активатора из яда щитомордника протеин С активируется и действует как антикоагулянт через протеолиз факторов Va и VIIIa в присутствии своего кофактора протеина S и фосфолипидов. Поэтому, после добавления активатора протеина С к нормальной плазме происходит удлинение времени свертывания. При недостаточном количестве протеина С, протеина S или при резистентности фактора Va к действию протеина С удлинение времени свертывания выражено в меньшей степени.

### Состав набора:

1. **Активатор протеина С** (лиофильно высушенный<sup>1</sup>) – 2 фл.
2. **АПТВ-реагент** (смесь фосфолипидов и эллаговой кислоты, лиофильно высушенная), на 2 мл – 4 фл.
3. **Кальция хлорид** (концентрированный 20:1 раствор, 0,5 М), 2 мл – 1 фл.
4. **Контрольная плазма** (лиофильно высушенная), на 1 мл – 2 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения не превышает 10%.  
Тест не чувствителен к присутствию в плазме крови гепарина до 0,3 ед./мл.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).  
Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

164

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, термобаня на +37 °С);
- пипетки вместимостью 0,05, 0,1 и 1,0 мл;
- герметично закрывающиеся стеклянные или пластиковые (полистироловые) флаконы;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад.

Возможно исследование предварительно замороженных образцов плазмы (хранение при -16...-20 °С не более 1 мес).

<sup>1</sup> Патент РФ №2184976, приоритет от 30.11.2000.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### А. Разведение активатора протеина С

В один из флаконов с активатором внести **указанный в Паспорте** к набору объём дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 1 мин. В результате получают раствор активатора протеина С.

#### Б. Разведение АПТВ-реагента

В один флакон с лиофильно высушенным АПТВ-реагентом внести **2,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и покачивании в течение 2 мин, после чего для гомогенизации пропипетировать полученную суспензию 10-12 раз без образования пены. Перед использованием разведенный АПТВ-реагент должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 15 мин. Непосредственно перед применением разведенный АПТВ-реагент встряхнуть.

#### В. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды). Расход рабочего раствора реагента на 1 больного – не более 0,5 мл.

#### Г. Разведение контрольной плазмы

В один флакон с контрольной плазмой внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную контрольную плазму разлить по 0,22-0,25 мл в пластиковые или стеклянные флаконы, которые затем закрывают и замораживают при -16... -20 °С. Второй флакон с контрольной плазмой использовать аналогично первому по необходимости.

В день проведения исследования использовать свежеразведенную контрольную плазму или контрольную плазму, размороженную при комнатной температуре.

### 2. Проведение анализа

#### 2.1. Исследование контрольной плазмы

##### Для автоматических коагулометров:

\* 1. В настройках автоматического коагулометра указать следующую последовательность действий и объёмы: к 0,05 мл АПТВ-реагента добавить 0,025 мл **дистиллированной воды**.

2. В смесь добавить 0,05 мл контрольной плазмы.

3. Провести инкубацию смеси при +37 °С в течение 5 мин.

4. После инкубации в кювету добавить 0,05 мл рабочего раствора кальция хлорида и зарегистрировать время свертывания. Результат обозначить как **С(1)**.

\* 1. В настройках автоматического коагулометра указать следующую последовательность действий и объёмы: к 0,05 мл АПТВ-реагента добавить 0,025 мл **активатора протеина С**.

2. В смесь добавить 0,05 мл контрольной плазмы.

3. Провести инкубацию смеси при +37 °С в течение 5 мин.

4. После инкубации в кювету добавить 0,05 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °С, и зарегистрировать время свертывания. Результат обозначить как **С(2)**.

##### Для полуавтоматических коагулометров:

\* 1. К 0,1 мл АПТВ-реагента, взятого в кювету коагулометра, добавить 0,05 мл **дистиллированной воды**.

2. Затем к смеси добавить 0,1 мл контрольной плазмы.

3. Провести инкубацию содержимого кюветы в термостате коагулометра при +37 °С.

4. Через 5 мин инкубации в кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °С, и зарегистрировать время свертывания. Результат обозначить как **С(1)**.

\* 1. К 0,1 мл АПТВ-реагента, взятого в другую кювету коагулометра, добавить 0,05 мл **активатора протеина С**.

2. Затем к смеси добавить 0,1 мл контрольной плазмы.

3. Провести инкубацию содержимого кюветы в термостате коагулометра при +37 °С.

4. Через 5 мин инкубации в кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °С, и зарегистрировать время свертывания. Результат обозначить как **С(2)**.

##### Мануальный вариант:

\* 1. К 0,1 мл АПТВ-реагента, взятого в пробирку, добавить 0,05 мл **дистиллированной воды**.

2. Затем к смеси добавить 0,1 мл контрольной плазмы.

3. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.

4. Через 5 мин инкубации в пробирку добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °С, и включить секундомер.

5. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания при периодическом покачивании пробирки. Результат обозначить как **C(1)**.

\* 1. К 0,1 мл АПТВ-реагента, взятого в другую пробирку, добавить 0,05 мл **активатора протеина С**.

2. Затем к смеси добавить 0,1 мл контрольной плазмы.

3. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.

4. Через 5 мин инкубации в пробирку добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °С, и включить секундомер.

5. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания при периодическом покачивании пробирки. Результат обозначить как **C(2)**.

**Примечание:** рекомендуется проводить исследование на коагулометре, что, в сравнении с мануальным вариантом, уменьшает разброс результатов.

## 2.2. Исследование плазмы больного

Выполняется аналогично исследованию контрольной плазмы (см. п. 2.1 – с использованием коагулометров по коагулометрическому или мануальному варианту), включает в себя определение времени свертывания в смеси плазмы больного с дистиллированной водой – **Б(1)** и в смеси плазмы больного с активатором протеина С – **Б(2)**.

## 3. Чтение результатов

По полученным данным рассчитывают нормализованное отношение (НО):

$$НО = \frac{C(1) \times B(2)}{B(1) \times C(2)} \times k$$

где: **C(1)** и **C(2)** – время свертывания в контрольной плазме с добавлением соответственно дистиллированной воды и активатора протеина С;

**Б(1)** и **Б(2)** – время свертывания в плазме больного с добавлением соответственно дистиллированной воды и активатора протеина С;

**k** – нормирующий коэффициент (см. Паспорт к набору реагентов Парус-тест).

В контрольной плазме (входящей в состав набора Парус-тест) время **C(1)** составляет **25–45 с** (в зависимости от техники определения), а **C(2)** превышает **70 с**.

**НО в норме превышает 0,7.** Все значения НО ниже 0,7 свидетельствуют о нарушении в системе протеина С (недостаточном количестве или аномалии протеина С, протеина S или резистентности фактора Va к действию протеина С).

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на исследование **80** образцов плазмы при использовании автоматических и полуавтоматических коагулометров. При использовании мануальной техники определений и ряда полуавтоматических коагулометров число определений снижается до **40**.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес.**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Время использования набора не должно превышать 2 недели с момента вскрытия его компонентов.

Раствор активатора протеина С можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 6 ч или при температуре +2... +8 °С не более 5 суток. Не замораживать.

Разведенный АПТВ-реагент можно хранить при комнатной температуре не более 6 ч и не более 1 недели при температуре +2... +8 °С.

Концентрированный раствор кальция хлорида после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2 месяцев.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при +37 °С не более 6 ч, при комнатной температуре – не более суток или не более 2-х дней при температуре +2... +8 °С. Не допускается сливание остатков этого раствора после дня работы с хранящимся при температуре +2... +8 °С раствором.

Разведенную контрольную плазму можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч или не более 1 мес. при температуре -16... -20 °С.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. 208 с.

# ФАКТОР V-PC-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения резистентности фактора Va к активированному протеину C

200

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор **Фактор V-PC-тест** предназначен для определения резистентности фактора Va к активированному протеину C.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Протеин C – витамин K-зависимый гликопротеин, который синтезируется в печени и циркулирует в крови в виде профермента. Под действием активатора из яда щитомордника протеин C активируется и действует как антикоагулянт через протеолиз факторов Va и VIIIa. При резистентности фактора Va к протеину C антикоагулянтное действие протеина C снижено, что может быть причиной тромбофилии. В данном методе, в результате добавления активатора протеина C к смеси нормальной и дефицитной по фактору V плазмы, происходит удлинение времени свертывания. При резистентности фактора Va к действию протеина C (в смеси плазмы больного и дефицитной по фактору V плазмы) удлинение времени свертывания выражено в меньшей степени.

### Состав набора:

1. **Активатор протеина C** (лиофильно высушенный<sup>1</sup>) – 2 фл.
2. **АПТВ-реагент** (смесь фосфолипидов и эллаговой кислоты, лиофильно высушенная), на 2 мл – 4 фл.
3. **Дефицитная по фактору V плазма**, (лиофильно высушенная), на 1 мл – 4 фл.
4. **Кальция хлорид** (концентрированный 20:1 раствор, 0,5 M) – 2 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения не превышает 10 %.

Тест не чувствителен к присутствию гепарина в плазме до 0,3 ед./мл.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр с механическим принципом регистрации результатов;
- пипетки вместимостью 0,05, 0,1, 1,0 и 5,0 мл;
- герметично закрывающиеся стеклянные или пластиковые (полистироловые) пробирки;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- секундомер;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление образцов плазмы

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1.

Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться

<sup>1</sup> Патент РФ №2184976, приоритет от 30.11.2000.

непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад.

Возможно исследование предварительно замороженных образцов плазмы (хранение при -16... -20 °С не более 1 мес).

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение активатора протеина С

В один из флаконов с активатором внести указанный в Паспорте к набору объём дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 1 мин. В результате получают раствор активатора протеина С.

#### 1.2. Разведение АПТВ-реагента

В один флакон с лиофильно высушенным АПТВ-реагентом внести **2,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и покачивании в течение 2 мин, после чего для гомогенизации пропипетировать полученную суспензию 10-12 раз без образования пены. Перед использованием разведенный АПТВ-реагент должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 15 мин. Непосредственно перед применением разведенный АПТВ-реагент встряхнуть.

#### 1.3. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды). Расход рабочего раствора реагента на 1 больного – не более 0,5 мл.

#### 1.4. Разведение дефицитной по фактору V плазмы

Во флакон с дефицитной по фактору V плазмы внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму разлить по 0,4-0,5 мл в пластиковые или стеклянные флаконы, которые затем закрывают и замораживают при -16... -20 °С.

Другие флаконы с дефицитной по фактору V плазмой использовать аналогично первому по необходимости. Разведенную плазму можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч или не более 1 мес при температуре -16... -20 °С.

В день проведения исследования использовать свежеразведенную дефицитную плазму или дефицитную по фактору V плазму, размороженную при комнатной температуре.

### 1.5. Подготовка контрольной плазмы

Для этой цели необходимо смешать (примерно в равных долях) 3-4 образца свежеприготовленной (см. раздел «Приготовление образцов плазмы») бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей.

## 2. Проведение анализа

### 2.1. Разведение образцов плазмы

Перед анализом контрольную плазму и исследуемые образцы плазмы развести физиологическим (0,9%) раствором хлорида натрия (1+3), для чего в каждом случае смешать **0,1 мл** плазмы с **0,3 мл** физиологического раствора.

### 2.2. Исследование контрольной плазмы

**А) 1.** К 0,05 мл дефицитной по фактору V плазмы, взятой в кювету коагулометра, добавить 0,05 мл **дистиллированной воды**.

2. Провести инкубацию содержимого кюветы в термостате коагулометра при +37 °С.

3. Через 4 мин инкубации в кювету последовательно добавить 0,1 мл разведенной (см. п. 2.1.) контрольной плазмы и 0,1 мл АПТВ-реагента.

4. Провести инкубацию содержимого кюветы в термостате коагулометра при +37 °С.

5. Через 3 мин инкубации в кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °С, и зарегистрировать время свертывания. Результат обозначить как **С(1)**.

**Б) 1.** К 0,05 мл дефицитной по фактору V плазмы, взятой в кювету коагулометра, добавить 0,05 мл **активатора протеина С**.

2. Провести инкубацию содержимого кюветы в термостате коагулометра при +37 °С.

3. Через 4 мин инкубации в кювету последовательно добавить 0,1 мл разведенной (см. п. 2.1.) контрольной плазмы и 0,1 мл АПТВ-реагента.

4. Провести инкубацию содержимого кюветы в термостате коагулометра при +37 °С.

5. Через 3 мин инкубации в кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °С, и зарегистрировать время свертывания. Результат обозначить как **С(2)**.

**Примечание:** *рекомендуется проводить исследования на механическом коагулометре (КС Амелунг; Минилаб 701, Юнимед; Thrombostat, Behnk Elektronik и др.), что, в сравнении с мануальным определением, значительно уменьшает разброс результатов.*

### 2.3. Исследование плазмы больного

Выполняется аналогично исследованию контрольной плазмы, включает в себя определение времени свертывания в смеси плазмы больного с дистиллированной водой - **Б(1)** и в смеси плазмы больного с активатором протеина С - **Б(2)**.

### Чтение результатов

По полученным данным рассчитывают нормализованное отношение (**НО**):

$$НО = \frac{С(1) \times Б(2)}{Б(1) \times С(2)}$$

где: **С(1)** и **С(2)** – время свертывания в контрольной плазме с добавлением соответственно дистиллированной воды и активатора протеина С;

**Б(1)** и **Б(2)** – время свертывания в плазме больного с добавлением соответственно дистиллированной воды и активатора протеина С;

В контрольной плазме время **С(1)** составляет примерно **45-80 с** (в зависимости от типа коагулометра), а **С(2)** – превышает **95 с**.

**НО** в норме превышает **0,8**. Все значения **НО** ниже 0,8 свидетельствуют о резистентности фактора Va к действию протеина С.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на исследование **40-80 образцов** плазмы при расходе активатора протеина С по 0,05-0,025 мл на анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Время использования набора не должно превышать 2 недели с момента вскрытия его компонентов.

Раствор активатора протеина С можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 6 ч или при температуре +2... +8 °С – не более 5 суток. Не замораживать.

Разведенный АПТВ-реагент можно хранить при комнатной температуре не более 6 ч и не более 1 недели – при температуре +2... +8 °С. Концентрированный раствор кальция хлорида после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2 месяцев.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при температуре +37 °С не более 6 ч, при комнатной температуре – не более 1 дня или в герметично закрытом флаконе – не более 2 дней при +2... +8 °С. Не допускается сливание остатков этого раствора после дня работы с хранящимся при температуре +2... +8 °С.

Разведенную дефицитную по фактору V плазму можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч или не более 1 мес – замороженной при температуре -16... -20 °С.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Цывкина Л.П., Мамаев А.Н. Способ диагностики тромбофилии, обусловленной резистентностью фактора V к активированному протеину С. Патент РФ №2129282 от 20.04.1999 г.
3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.



# ГЕПАРИН-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения тромбин-гепаринового времени свертывания



Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор предназначен для определения тромбин-гепаринового времени свертывания (ТГВС) при оценке чувствительности тромбинового времени свертывания к гепарину.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** При добавлении стандартной дозы гепарина к плазме крови тромбиновое время удлиняется в зависимости от содержания в ней антитромбина III и компонентов, блокирующих действие гепарина (белки «острой фазы», фосфолипидные мембраны и др.). По степени удлинения тромбинового времени судят об индивидуальной достаточности антикоагулянтного эффекта гепарина.

### Состав набора:

1. **Тромбин** (лиофильно высушенный, 500 ед. NIH) – 1 фл.
2. **Гепарин** (сухой) – 1 фл.
3. **Буфер трис-НСl** (концентрированный 20:1 раствор, 1 M), 10 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения тромбин-гепаринового времени не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения тромбин-гепаринового времени в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать

одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- термобаня на +37 °C;
- пробирки стеклянные;
- пипетка вместимостью 10,0 мл;
- дозатор пипеточный на 0,1-1,0 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 200 мл;
- перчатки резиновые хирургические;
- контрольная нормальная бедная тромбоцитами плазма;
- вода дистиллированная;
- физиологический (0,9 %) раствор хлорида натрия.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.



## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

**1.1. Разведение концентрированного буфера**  
Содержимое флакона с концентрированным буфером трис-HCl перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой **до 200,0 мл**. В результате получают рабочий раствор буфера трис-HCl.

### 1.2. Разведение тромбина

1. Во флакон с тромбином внести **10,0 мл** физиологического (0,9 %) раствора хлорида натрия и развести содержимое при комнатной температуре (+18... +25°C) и легком покачивании в течение 2-3 мин. В результате получают маточный раствор тромбина (хранится без потери коагуляционной активности при температуре +2... +8°C до 30 дней).

2. Для приготовления рабочего раствора тромбина смешать в пробирке один объем маточного раствора тромбина с указанным в Паспорте к набору объемом рабочего раствора буфера. Полученный рабочий раствор тромбина при добавлении к контрольной нормальной плазме (см. *Проведение анализа*) должен иметь активность **15-16 с**. В случае необходимости к раствору добавить небольшое количество буфера или маточного раствора тромбина для получения требуемой активности последнего.

Рабочий раствор тромбина для сохранения активности рекомендуется готовить в силиконированной или пластиковой (полистироловой) пробирке, не прогревать при температуре +37°C и хранить при комнатной температуре до использования.

### 1.3. Разведение гепарина

1. Во флакон с гепарином внести **10,0 мл** физиологического (0,9 %) раствора хлорида натрия и развести содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. В результате получают маточный раствор гепарина – 20 ед./мл (хранят при температуре +2... +8°C до 30 дней).

2. Для приготовления рабочего раствора гепарина использовать схему разведений, приведенную в *Паспорте к набору* реагентов. Разведения гепарина хранить в герметичной таре при температуре +2... +8°C в течение 1 недели и использовать по мере необходимости.

## 2. Проведение анализа

### 2.1. Выбор разведения гепарина с необходимой антикоагулянтной активностью на контрольной нормальной плазме

А) 0,1 мл свежей контрольной нормальной бедной тромбоцитами плазмы, взятой в пробирку, прогреть 1 мин при +37°C.

Б) Добавить 0,1 мл одного из разведений гепарина и 0,1 мл рабочего раствора тромбина (имеющих температуру +18...+25°C) и включить секундомер. Отметить время от момента внесения раствора тромбина до свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

Необходимо найти и в дальнейшем использовать то разведение гепарина, при котором тромбин-гепариновое время свертывания составляет **65-80 с**. Обычно это 4-е или 3-е разведение. Неточность рекомендуемого разведения гепарина связана с известной нестабильностью этого антикоагулянта в растворе.

### 2.2. Определение тромбин-гепаринового времени свертывания в исследуемой плазме (больного)

Проводят аналогично по п. 3.1 (см. *выше*) с заменой контрольной нормальной плазмы на исследуемую.

## 3. Чтение результатов

По полученным в день исследования данным рассчитывают индекс антитромбинового резерва плазмы (АТР):

**АТР = Б/Кх100 %**, где:

**Б** – тромбин-гепариновое время в плазме больного;

**К** – тот же показатель в контрольной нормальной плазме.

**В норме АТР составляет 80-120 %.**

Диагностическое значение имеет снижение АТР, которое зависит:

- от дефицита антитромбина III (АТ III) ниже 75 % (проверяется определением активности АТ-III, например, *Тех-Анти тромбин-тест*; кат. № 688 или *ХромоТех-Анти тромбин*; кат. № 192, производимых ООО фирмой "Технология-Стандарт");

- от степени родства АТ III к гепарину, обуславливающей один из видов тромбофилии;

- от избыточного накопления в исследуемой плазме нейтрализующих гепарин белков

"острой фазы" (фибриноген, С-реактивный белок,  $\alpha_2$ -кислый гликопротеин и др.) и фосфолипидной мембран.

Для эффективной гепаринотерапии в первых двух случаях требуется восполнение дефицита (активности) АТ III трансфузиями свежезамороженной плазмы или концентратом АТ III, а в третьем случае – удаление избытка белков "острой фазы" и других связывающих гепарин патологических компонентов плазмаферезом.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **100 анализов**.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8°C в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25°C в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 1 мес с момента вскрытия его компонентов.

Маточный раствор тромбина можно хранить при температуре +2... +8°C не более 30 дней.

Рабочий раствор тромбина можно хранить при комнатной температуре (+18... +25°C) не более 2 ч или не более 6 ч при температуре +2... +8°C.

Рабочий раствор буфера можно хранить при температуре +2... +8°C не более 1 мес.

Маточный раствор гепарина можно хранить при температуре +2... +8°C не более 30 дней; не замораживать.

Рабочий раствор гепарина можно хранить при комнатной температуре не более 1 дня или не более 1 недели при температуре +2... +8°C.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. 208 с.

# ТЕХ-D-ДИМЕР-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения D-димера в плазме крови

798

Каталожный  
номер набора

Только для  
in vitro  
диагностики

### Назначение

Набор «Тех-D-димер-тест» предназначен для качественного или полуколичественного определения D-димера в плазме крови человека. D-димер – один из важнейших маркеров активации свёртывания крови, поскольку он формируется и попадает в кровоток в результате образования и последующего лизиса плазмином стабилизированного фибрина. D-димер присутствует в плазме крови практически здоровых людей, однако его уровень в норме не превышает 250 нг/мл. Повышение уровня D-димера имеет диагностическое значение у больных с тромбозом глубоких вен, тромбоэмболией легочной артерии, ДВС-синдромом различного генеза, при тромболитической терапии, беременности.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования

### Характеристика набора

**Принцип метода.** В тесте используются моноклональные антитела, специфичные к D-димеру фибрина, но не к фибриногену и продуктам его деградации. Антитела связаны с частицами латекса, поэтому при смешивании на горизонтальной поверхности латексной суспензии с плазмой, содержащей D-димер, появляется видимая агглютинация.

### Состав набора:

1. **Латексный реагент** (суспензия латексных частиц, покрытых моноклональными антителами к D-димеру), 0,9 мл – 1 фл.
2. **Позитивный контроль** (лиофилизированная плазма с высоким уровнем D-димера), на 1 мл – 1 фл.
3. **Негативный контроль** (лиофилизированная плазма, не содержащая D-димер), на 1 мл – 1 фл.
4. **Буфер солевой**, 10 мл – 1 фл.
5. **Пластина тестовая** (на 6 тестовых ячеек) – 8 шт.

6. **Палочка для перемешивания** – 25 шт.

### Аналитические характеристики набора

Результаты, получаемые при применении набора «Тех-D-димер-тест», являются качественными, т.е. расцениваются как положительные или отрицательные, а при исследовании разведений плазмы – как полуколичественные.

При исследовании контрольной плазмы (позитивный контроль), входящей в состав набора, отмечается наличие агглютинации частиц латекса в течение не более 200 с.

При исследовании контрольной плазмы (негативный контроль), входящей в состав набора «Тех-D-димер-тест», отмечается отсутствие агглютинации частиц латекса в течение 200 с.

Чувствительность латексного реагента к D-димеру составляет 250 нг/мл.

Использование в наборе высокоочищенных моноклональных антител для покрытия латексных частиц, позволяет достичь высокой специфичности определения. Латексный реагент высокоспецифичен по отношению к D-димеру и не дает перекрестных реакций с фибриногеном и продуктами его деградации.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

### Диагностические характеристики набора

Диагностическая чувствительность набора составила 96,24%, диагностическая специфичность – 94,40% с доверительной вероятностью 90%. Данные получены при проведении клинических испытаний в экспертной организации.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения in vitro.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

Компоненты набора реагентов не содержат антитела к ВИЧ 1, 2 и вирусу гепатита С и HBsAg.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- дозаторы на 0,02, 0,1, 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- секундомер;
- пробирки;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

Латексный реагент в составе данного набора находится в жидком состоянии. Перед использованием требует тщательного перемешивания (рекомендуется использовать устройство типа Вортекс).

Буфер солевой в составе данного набора находится в жидком состоянии и готов к использованию.

Во флакон с позитивным контролем внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин. Аналогично развести содержимое флакона с негативным контролем.

Все реагенты перед использованием необходимо выдержать при комнатной температуре в течение не менее 10 мин.

### 2. Проведение анализа

#### 2.1. Качественный анализ (скрининг)

1. Добавить 0,02 мл исследуемого образца или контрольной плазмы в одну из ячеек тестовой пластины.
2. Добавить в эту же ячейку (рядом с образцом) 0,02 мл латексного реагента.
3. Быстро перемешать образцы и латексный реагент, используя палочку для перемешивания. Включить секундомер.
4. Осторожно покачивая пластину через 180-200 с определить наличие или отсутствие агглютинации частиц латекса.

Если в исследуемых образцах отсутствует агглютинация, то результат следует считать отрицательным и дальнейшего исследования образцы не требуют.

Агглютинация (результат положительный) характеризуется появлением неомогенности смеси, усиливающейся с течением времени. Агглютинацию частиц латекса в образцах сравнивают с результатами исследования контрольных плазм. Позитивный контроль является только качественным и не подлежит дальнейшему разведению.

Иногда образцы при смешивании с латексом могут дать белые хлопья, которые нельзя путать с агглютинацией.

#### 2.2. Полуколичественный анализ

Выполняется только с образцами, показавшими положительный результат при качественном анализе (скрининге, см. п. 2.1).

1. Последовательно развести 0,1 мл исследуемого образца в 2, 4, 8 и 16 раз

с помощью буфера солевой в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

**Схема разведения образца плазмы для выполнения полуколичественного анализа**

№ разведения образца	Разведение образца плазмы	Исследуемый образец плазмы	Буфер солевой
1	1+1	0,1 мл	0,1 мл
2	1+3	0,1 мл разведения №1	0,1 мл
3	1+7	0,1 мл разведения №2	0,1 мл
4	1+15*	0,1 мл разведения №3	0,1 мл

\* при концентрации D-димера >4000 нг/мл целесообразно использовать более высокие разведения исследуемого образца

- Промаркировать пластины тестовые, указав величину разведения образца и смешать соответствующие разведения образца с латексной суспензией на пластине тестовой, как описано в процедуре для качественного анализа (см. п. 2.1).
- Агглютинация частиц латекса появляется в течение 180-200 с в образцах с содержанием D-димера выше 250 нг/мл.

Исследуя разведения образцов, вызывающих агглютинацию, определяют концентрацию D-димера в соответствии с формулой:

$$\text{D-димер (нг/мл)} = 250 \times F,$$

где F – наибольшее разведение образца, вызывающее агглютинацию латексных частиц.

Пример вычисления концентрации D-димера представлен в таблице 2.

Таблица 2

**Пример учета результатов агглютинации частиц латекса при определении D-димера**

Разведение (образец + буфер солевой)	F	Результат агглютинации
Без разведения	1	+
1+1	2	+
1+3	4	+
1+7	8	-
1+15	16	-

$$\text{D-димер (нг/мл)} = 250 \times 4 = 1000 \text{ нг/мл}$$

При высоких концентрациях D-димера агглютинация более выражена и проявляется быстрее.

**3. Чтение результатов**

Повышение уровня D-димера (**свыше 250 нг/мл**) характерно для различных вариантов внутрисосудистого свертывания крови (тромбозы магистральных сосудов, ТЭЛА, ДВС-синдром и др.). Высокие показания теста наблюдаются и при лечении больных активаторами фибринолиза (стрептокиназой, азелизиним, актилизе и др.), в связи с чем метод используется в комплексе с определением концентрации фибриногена для контроля такой терапии.

**4. Внутрिलाбораторный контроль качества**

Для проведения внутрिलाбораторного контроля качества рекомендуется использовать позитивный и негативный контроли. Контрольные плазмы разводятся в день исследования и служат для проверки правильности выполнения анализа.

**Условия хранения и применения**

Набор рассчитан на исследование 45 образцов плазмы крови при расходе латексного реагента по 20 мкл на 1 анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Разведенные контрольные плазмы можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 8 ч, при температуре +2... +8 °С в течение недели. Допускается однократное замораживание плазмы при -20...-40 °С и хранение в течение месяца.

Латексный реагент и буфер солевой, после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более двух недель или не более месяца – при температуре +2... +8 °С, не замораживать.

Не следует смешивать реагенты из наборов разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как

медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

### **Гарантийные обязательства**

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут

привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «Тех-Д-димер-тест», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

### **Литература**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХ-D-ДИМЕР-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения D-димера в плазме крови

799

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор «Тех-Д-димер-тест» предназначен для качественного или полуколичественного определения D-димера в плазме крови человека. D-димер – один из важнейших маркеров активации свёртывания крови, поскольку он формируется и попадает в кровоток в результате образования и последующего лизиса плазмином стабилизированного фибрина. D-димер присутствует в плазме крови практически здоровых людей, однако его уровень в норме не превышает 250 нг/мл. Повышение уровня D-димера имеет диагностическое значение у больных с тромбозом глубоких вен, тромбоэмболией легочной артерии, ДВС-синдромом различного генеза, при тромболитической терапии, беременности.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** В тесте используются моноклональные антитела, специфичные к D-димеру фибрина, но не к фибриногену и продуктам его деградации. Антитела связаны с частицами латекса, поэтому при смешивании на горизонтальной поверхности латексной суспензии с плазмой, содержащей D-димер, появляется видимая агглютинация.

### Состав набора:

1. **Латексный реагент** (суспензия латексных частиц, покрытых моноклональными антителами к D-димеру), 1,7 мл – 1 фл.
2. **Позитивный контроль** (лиофилизированная плазма с высоким уровнем D-димера), на 1 мл – 1 фл.
3. **Негативный контроль** (лиофилизированная плазма, не содержащая D-димер), на 1 мл – 1 фл.
4. **Буфер солевой**, 10 мл – 2 фл.
5. **Пластина тестовая** (на 6 тестовых ячеек) – 16 шт.
6. **Палочка для перемешивания** – 50 шт.

### Аналитические характеристики набора

Результаты, получаемые при применении набора «Тех-Д-димер-тест», являются качественными, т.е. расцениваются как положительные или отрицательные, а при исследовании разведений плазмы – как полуколичественные.

При исследовании контрольной плазмы (позитивный контроль), входящей в состав набора, отмечается наличие агглютинации частиц латекса в течение не более 200 с.

При исследовании контрольной плазмы (негативный контроль), входящей в состав набора «Тех-Д-димер-тест», отмечается отсутствие агглютинации частиц латекса в течение 200 с.

Чувствительность латексного реагента к D-димеру составляет 250 нг/мл.

Использование в наборе высокоочищенных моноклональных антител для покрытия латексных частиц, позволяет достичь высокой специфичности определения. Латексный реагент высокоспецифичен по отношению к D-димеру и не дает перекрестных реакций с фибриногеном и продуктами его деградации.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

### Диагностические характеристики набора

Диагностическая чувствительность набора составила 96,24%, диагностическая специфичность – 94,40% с доверительной вероятностью 90%. Данные получены при проведении клинических испытаний в экспертной организации.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

Компоненты набора реагентов не содержат антитела к ВИЧ 1, 2 и вирусу гепатита С и HBsAg.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- дозаторы на 0,02, 0,1, 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- секундомер;
- пробирки;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

Латексный реагент в составе данного набора находится в жидком состоянии. Перед использованием требует тщательного перемешивания (рекомендуется использовать устройство типа Вортекс).

Буфер солевой в составе данного набора находится в жидком состоянии и готов к использованию.

Во флакон с позитивным контролем внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин. Аналогично развести содержимое флакона с негативным контролем.

Все реагенты перед использованием необходимо выдержать при комнатной температуре в течение не менее 10 мин.

### 2. Проведение анализа

#### 2.1. Качественный анализ (скрининг)

1. Добавить 0,02 мл исследуемого образца или контрольной плазмы в одну из ячеек тестовой пластины.
2. Добавить в эту же ячейку (рядом с образцом) 0,02 мл латексного реагента.
3. Быстро перемешать образцы и латексный реагент, используя палочку для перемешивания. Включить секундомер.
4. Осторожно покачивая пластину через 180-200 с определить наличие или отсутствие агглютинации частиц латекса.

Если в исследуемых образцах отсутствует агглютинация, то результат следует считать отрицательным и дальнейшего исследования образцы не требуют.

Агглютинация (результат положительный) характеризуется появлением неомогенности смеси, усиливающейся с течением времени.

Агглютинацию частиц латекса в образцах сравнивают с результатами исследования контрольных плазм. Позитивный контроль является только качественным и не подлежит дальнейшему разведению.

Иногда образцы при смешивании с латексом могут дать белые хлопья, которые нельзя путать с агглютинацией.

#### 2.2. Полуколичественный анализ

Выполняется только с образцами, показавшими положительный результат при качественном анализе (скрининге, см. п. 2.1).



1. Последовательно развести 0,1 мл исследуемого образца в 2, 4, 8 и 16 раз с помощью буфера солевого в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

**Схема разведения образца плазмы для выполнения полуколичественного анализа**

№ разведения образца	Разведение образца плазмы	Исследуемый образец плазмы	Буфер солевой
1	1+1	0,1 мл	0,1 мл
2	1+3	0,1 мл разведения №1	0,1 мл
3	1+7	0,1 мл разведения №2	0,1 мл
4	1+15*	0,1 мл разведения №3	0,1 мл

\* при концентрации D-димера >4000 нг/мл целесообразно использовать более высокие разведения исследуемого образца.

2. Промаркировать пластины тестовые, указав величину разведения образца и смешать соответствующие разведения образца с латексной суспензией на пластине тестовой, как описано в процедуре для качественного анализа (см. п. 2.1).

3. Агглютинация частиц латекса появляется в течение 180-200 с в образцах с содержанием D-димера выше 250 нг/мл.

Исследуя разведения образцов, вызывающих агглютинацию, определяют концентрацию D-димера в соответствии с формулой:

$$\text{D-димер (нг/мл)} = 250 \times F,$$

где F – наибольшее разведение образца, вызывающее агглютинацию латексных частиц.

Пример вычисления концентрации D-димера представлен в таблице 2.

Таблица 2

**Пример учета результатов агглютинации частиц латекса при определении D-димера**

Разведение (образец + буфер солевой)	F	Результат агглютинации
Без разведения	1	+
1+1	2	+
1+3	4	+
1+7	8	-
1+15	16	-

$$\text{D-димер (нг/мл)} = 250 \times 4 = 1000 \text{ нг/мл}$$

При высоких концентрациях D-димера агглютинация более выражена и проявляется быстрее.

**3. Чтение результатов**

Повышение уровня D-димера (**свыше 250 нг/мл**) характерно для различных вариантов внутрисосудистого свертывания крови (тромбозы магистральных сосудов, ТЭЛА, ДВС-синдром и др.). Высокие показания теста наблюдаются и при лечении больных активаторами фибринолиза (стрептокиназой, авелизином, актилизе и др.), в связи с чем метод используется в комплексе с определением концентрации фибриногена для контроля такой терапии.

**4. Внутрिलाбораторный контроль качества**

Для проведения внутрिलाбораторного контроля качества рекомендуется использовать позитивный и негативный контроли. Контрольные плазмы разводятся в день исследования и служат для проверки правильности выполнения анализа.

**Условия хранения и применения**

Набор рассчитан на исследование **85 образцов** плазмы крови при расходе латексного реагента по 20 мкл на 1 анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °C в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Разведенные контрольные плазмы можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °C) не более 8 ч, при температуре +2... +8 °C в течение недели. Допускается однократное замораживание плазмы при -20... -40 °C и хранение в течение месяца.

Латексный реагент и буфер солевой, после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °C) не более двух недель или не более месяца – при температуре +2... +8 °C, не замораживать.

Не следует смешивать реагенты из наборов разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицин-

ские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

### Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «Тех-Д-димер-тест», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХ-D-ДИМЕР-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения D-димера в плазме крови

800

Каталожный  
номер набора

Только для  
in vitro  
диагностики

### Назначение

Набор «Тех-D-димер-тест» предназначен для качественного или полуколичественного определения D-димера в плазме крови человека. D-димер – один из важнейших маркеров активации свёртывания крови, поскольку он формируется и попадает в кровоток в результате образования и последующего лизиса плазмином стабилизированного фибрина. D-димер присутствует в плазме крови практически здоровых людей, однако его уровень в норме не превышает 250 нг/мл. Повышение уровня D-димера имеет диагностическое значение у больных с тромбозом глубоких вен, тромбозом легочной артерии, ДВС-синдромом различного генеза, при тромболитической терапии, беременности.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** В тесте используются моноклональные антитела, специфичные к D-димеру фибрина, но не к фибриногену и продуктам его деградации. Антитела связаны с частицами латекса, поэтому при смешивании на горизонтальной поверхности латексной суспензии с плазмой, содержащей D-димер, появляется видимая агглютинация.

### Состав набора:

1. **Латексный реагент** (суспензия латексных частиц, покрытых моноклональными антителами к D-димеру), 0,9 мл – 1 фл.
2. **Латексный реагент** (суспензия латексных частиц, покрытых моноклональными антителами к D-димеру), 1,7 мл – 1 фл.
3. **Позитивный контроль** (лиофилизированная плазма с высоким уровнем D-димера), на 1 мл – 1 фл.
4. **Негативный контроль** (лиофилизированная плазма, не содержащая D-димер), на 1 мл – 1 фл.
5. **Буфер солевой**, 10 мл – 3 фл.

6. **Пластина тестовая** (на 6 тестовых ячеек) – 22 шт.

7. **Палочка для перемешивания** – 70 шт.

### Аналитические характеристики набора

Результаты, получаемые при применении набора «Тех-D-димер-тест», являются качественными, т.е. расцениваются как положительные или отрицательные, а при исследовании разведений плазмы – как полуколичественные.

При исследовании контрольной плазмы (позитивный контроль), входящей в состав набора, отмечается наличие агглютинации частиц латекса в течение не более 200 с.

При исследовании контрольной плазмы (негативный контроль), входящей в состав набора «Тех-D-димер-тест», отмечается отсутствие агглютинации частиц латекса в течение 200 с.

Чувствительность латексного реагента к D-димеру составляет 250 нг/мл.

Использование в наборе высокоочищенных моноклональных антител для покрытия латексных частиц, позволяет достичь высокой специфичности определения. Латексный реагент высокоспецифичен по отношению к D-димеру и не дает перекрестных реакций с фибриногеном и продуктами его деградации.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

### Диагностические характеристики набора

Диагностическая чувствительность набора составила 96,24%, диагностическая специфичность – 94,40% с доверительной вероятностью 90%. Данные получены при проведении клинических испытаний в экспертной организации.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения

набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

Компоненты набора реагентов не содержат антитела к ВИЧ 1, 2 и вирусу гепатита С и HBsAg.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- дозаторы на 0,02, 0,1, 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- секундомер;
- пробирки;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор

плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

Латексный реагент в составе данного набора находится в жидком состоянии. Перед использованием требует тщательного перемешивания (рекомендуется использовать устройство типа Вортекс).

Буфер солевой в составе данного набора находится в жидком состоянии и готов к использованию.

Во флакон с позитивным контролем внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин. Аналогично развести содержимое флакона с негативным контролем.

Все реагенты перед использованием необходимо выдержать при комнатной температуре в течение не менее 10 мин.

## 2. Проведение анализа

### 2.1. Качественный анализ (скрининг)

1. Добавить 0,02 мл исследуемого образца или контрольной плазмы в одну из ячеек тестовой пластины.
2. Добавить в эту же ячейку (рядом с образцом) 0,02 мл латексного реагента.
3. Быстро перемешать образцы и латексный реагент, используя палочку для перемешивания. Включить секундомер.
4. Осторожно покачивая пластину через 180-200 с определить наличие или отсутствие агглютинации частиц латекса.

Если в исследуемых образцах отсутствует агглютинация, то результат следует считать отрицательным и дальнейшего исследования образцы не требуют.

Агглютинация (результат положительный) характеризуется появлением неомогенности смеси, усиливающейся с течением времени.

Агглютинацию частиц латекса в образцах сравнивают с результатами исследования контрольных плазм. Позитивный контроль является только качественным и не подлежит дальнейшему разведению.

Иногда образцы при смешивании с латексом могут дать белые хлопья, которые нельзя путать с агглютинацией.

**2.2. Полуколичественный анализ**

Выполняется только с образцами, показавшими положительный результат при качественном анализе (скрининге, см. п. 2.1).

1. Последовательно развести 0,1 мл исследуемого образца в 2, 4, 8 и 16 раз с помощью буфера солевого в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

**Схема разведения образца плазмы для выполнения полуколичественного анализа**

№ разведения образца	Разведение образца плазмы	Исследуемый образец плазмы	Буфер солевой
1	1+1	0,1 мл	0,1 мл
2	1+3	0,1 мл разведения №1	0,1 мл
3	1+7	0,1 мл разведения №2	0,1 мл
4	1+15*	0,1 мл разведения №3	0,1 мл

*\* при концентрации D-димера >4000 нг/мл целесообразно использовать более высокие разведения исследуемого образца.*

2. Промаркировать пластины тестовые, указав величину разведения образца и смешать соответствующие разведения образца с латексной суспензией на пластине тестовой, как описано в процедуре для качественного анализа (см. п. 2.1).
3. Агглютинация частиц латекса появляется в течение 180-200 с в образцах с содержанием D-димера выше 250 нг/мл.

Исследуя разведения образцов, вызывающих агглютинацию, определяют концентрацию D-димера в соответствии с формулой:

**D-димер (нг/мл) = 250 × F,**

где **F** – наибольшее разведение образца, вызывающее агглютинацию латексных частиц.

Пример вычисления концентрации D-димера представлен в таблице 2.

Таблица 2

**Пример учета результатов агглютинации частиц латекса при определении D-димера**

Разведение (образец + буфер солевой)	F	Результат агглютинации
Без разведения	1	+
1+1	2	+
1+3	4	+
1+7	8	-
1+15	16	-

**D-димер (нг/мл) = 250 × 4 = 1000 нг/мл**

При высоких концентрациях D-димера агглютинация более выражена и проявляется быстрее.

**3. Чтение результатов**

Повышение уровня D-димера (**свыше 250 нг/мл**) характерно для различных вариантов внутрисосудистого свертывания крови (тромбозы магистральных сосудов, ТЭЛА, ДВС-синдром и др.). Высокие показания теста наблюдаются и при лечении больных активаторами фибринолиза (стрептокиназой, ате-лизином, актилизе и др.), в связи с чем метод используется в комплексе с определением концентрации фибриногена для контроля такой терапии.

**4. Внутрिलाбораторный контроль качества**

Для проведения внутрिलाбораторного контроля качества рекомендуется использовать позитивный и негативный контроли. Контрольные плазмы разводятся в день исследования и служат для проверки правильности выполнения анализа.

**Условия хранения и применения**

Набор рассчитан на исследование **130 образцов** плазмы крови при расходе латексного реагента по 20 мкл на 1 анализ. Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °C в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами

перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Разведенные контрольные плазмы можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 8 ч, при температуре +2... +8 °С в течение недели. Допускается однократное замораживание плазмы при -20... -40 °С и хранение в течение месяца.

Латексный реагент и буфер солевой, после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более двух недель или не более месяца – при температуре +2... +8 °С, не замораживать.

Не следует смешивать реагенты из наборов разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

#### **Гарантийные обязательства**

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «Тех-Д-димер-тест», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

#### **Литература**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХ-D-ДИМЕР-AВТО

## Инструкция по применению набора реагентов для количественного определения D-димера в плазме крови

819

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор «Тех-D-димер-авто» предназначен для количественного определения D-димера в плазме крови человека иммунотурбидиметрическим методом при длине волны 500–900 нм. D-димер – один из важнейших маркеров активации свёртывания крови и фибринолиза, поскольку он формируется в кровотоке в результате образования и последующего лизиса плазмином стабилизированного фибрина. Высокий уровень D-димера будет регистрироваться у больных с тромбозами, тромбоэмболиями, ДВС-синдромом различного генеза.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** В тесте используются оригинальные моноклональные антитела, специфичные к D-димеру фибрина, но не к фибриногену и продуктам его деградации. Латексные частицы покрыты антителами к D-димеру, поэтому в присутствии плазмы, содержащей D-димер, происходит реакция антиген-антитело, что приводит к увеличению оптической плотности. Увеличение оптической плотности в реакционной кювете прибора пропорционально количеству D-димера в исследуемом образце (иммунотурбидиметрический метод).

### Состав набора:

1. **D-димер латексный реагент** (суспензия латексных частиц, покрытых мышиными моноклональными антителами к D-димеру), 4 мл – 2 фл.
2. **D-димер буфер**, 7 мл – 2 фл.
3. **D-димер дилуент**, 7 мл – 1 фл.
4. **D-димер калибратор** (лиофильно высушенная плазма крови человека, обогащенная D-димером), на 1 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Чувствительность латексного реагента к D-димеру для коагулометра составляет 50 нг/мл.

Чувствительность латексного реагента к D-димеру для фотометра составляет 100 нг/мл.

Линейность определения уровня D-димера для коагулометра – в диапазоне от 100 до 5000 нг/мл, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Линейность определения уровня D-димера для фотометра – в диапазоне от 200 до 5000 нг/мл, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Тест на «открытие» – не более 10 % отклонения.

Коэффициент вариации результатов определения уровня D-димера не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения уровня D-димера в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не более 10 %.

Моноклональные антитела, покрывающие частицы латекса, высокоспецифичны по отношению к D-димеру и не дают перекрестных реакций с фибриногеном и продуктами его деградации.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

Концентрация D-димера в любом образце может отличаться от концентрации, определенной с использованием тест-систем других производителей.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

Компоненты набора реагентов не содержат антитела к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории

медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### **Оборудование, материалы, реагенты**

- Коагулометр автоматический или иной прибор с оптическим методом регистрации и возможностью определения оптической плотности в диапазоне 500-900 нм.
- центрифуга лабораторная;
- дозатор на 0,05-1,0 мл;
- пробирки;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### **Приготовление анализируемых образцов**

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 г в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы для исследования – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 24 ч назад. Допускается однократное замораживание образцов плазмы пациентов при -20...-70 °С и хранение в течение 24 мес. Перед проведением исследования плазму следует быстро разморозить при +37 °С на водяной бане.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагентов к работе**

Латексный реагент, буфер и дилюент в составе данного набора находятся в жидком состоянии и готовы к использованию.

Перед использованием латексного реагента флакон рекомендуется аккуратно встряхнуть, избегая образования пены.

Во флакон с плазмой-калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Перед использованием выдержать при комнатной температуре в течение не менее 10 мин.

Концентрация D-димера в плазме-калибраторе указана в паспорте к набору.

### **2. Проведение анализа**

Для построения калибровочной кривой необходимо использовать значение D-димера в плазме-калибраторе, указанное в паспорте к набору для данной серии. Калибровочную кривую необходимо строить каждый раз, когда используется новая серия набора, после замены прибора или технического обслуживания, а также, в случае, если результаты внутрилабораторного контроля качества выходят за рамки установленного диапазона.

#### **2.1. Определение D-димера на автоматическом коагулометре**

Коагулометр в автоматическом режиме смешивает исследуемую плазму с D-димер дилюентом, D-димер буфером и D-димер латексным реагентом, после чего регистрирует изменение оптической плотности и рассчитывает уровень D-димера.

В случае если в исследуемой плазме уровень D-димера выше максимального значения на калибровочной кривой, образец необходимо развести физиологическим (0,9 %) раствором натрия хлорида (в два или более раза) и провести повторное измерение уровня D-димера. Полученное значение уровня D-димера умножить на величину разведения.

Описание принципа работы автоматического коагулометра представлено в инструкции производителя автоматического коагулометра. Для конкретного производителя автоматического коагулометра на сайте ООО фирмы «Технология-Стандарт» размещены протоколы адаптации (<http://www.tehnologia-standart.ru>).



## 2.2. Определение D-димера на фотометре

Рекомендации к работе на фотометре:

1. Перед каждым новым измерением кювету промывать физиологическим (0,9 %) раствором натрия хлорида дважды.
2. Для установления нулевого значения отсчета необходимо использовать физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида.
3. В зависимости от используемой кюветы объемы плазмы и реагентов могут быть уменьшены или увеличены. При этом необходимо сохранить соотношение объёмов, указанных в данной инструкции.

### А. Построение калибровочной кривой

Для построения калибровочной кривой необходимо приготовить дополнительные разведения плазмы-калибратора. Для этого в чистую пробирку добавить 0,1 мл плазмы-калибратора и 0,1 мл физиологического (0,9 %) раствора, перемешать (значение уровня D-димера указано в паспорте к набору). Последовательно развести плазму из пробирки физиологическим раствором в 2, 4, 8, 16 и 32 раза. Присвоить каждому разведению соответствующее значение уровня D-димера.

1. В кювету фотометра внести 0,1 мл одного из разведений плазмы-калибратора и 0,5 мл D-димер буфера.
2. Добавить 0,3 мл латексного реагента, хорошо перемешать в течение 5-10 с.
3. Дважды измерить оптическую плотность: исходное и через 3 мин инкубации реакционной смеси.
4. Определить величину изменения оптической плотности в течение 3 мин.

5. По полученным данным построить калибровочную кривую, используя координатную сетку (представлена в паспорте к набору).

### Б. Проведение анализа

Объемы используемых реагентов приведены для кюветы емкостью 1 мл.

1. В кювету фотометра внести 0,05 мл исследуемой или контрольной плазмы и 0,5 мл D-димер буфера.
2. Добавить 0,3 мл латексного реагента, хорошо перемешать в течение 5-10 с.
3. Дважды измерить оптическую плотность: исходное и через 3 мин инкубации реакционной смеси.

4. Определить величину изменения оптической плотности в течение 3 мин.
5. Используя калибровочную кривую, определить концентрацию D-димера в исследуемом образце.

### 3. Чтение результатов

D-димер присутствует в плазме крови практически здоровых людей, однако его уровень в норме, как правило, не превышает 250 нг/мл.

Повышение уровня D-димера характерно для различных вариантов внутрисосудистого свертывания крови (тромбозы магистральных сосудов, ТЭЛА, ДВС-синдром и др.), при лечении больных активаторами фибринолиза (препараты стрептокиназы, урокиназы и тканевого активатора плазминогена), в связи с чем метод используется в комплексе с определением концентрации фибриногена для контроля такой терапии.

**Примечание:** наиболее часто применяемые весовые единицы измерения соотносятся между собой следующим образом:  
 $250 \text{ нг/мл} = 0,250 \text{ мкг/мл} = 0,250 \text{ мг/л} = 250 \text{ мкг/л}$ . Для пересчета результатов в нг FEU/мл следует использовать следующую формулу:  
 $\text{нг/мл} \times 2 = \text{нг FEU/мл}$ .

### 4. Внутрिलाбораторный контроль качества

При осуществлении внутрिलाбораторного контроля качества необходимо использовать набор контрольных плазм «Тех-Д-димер контроль» (кат. № 813, № 817).

Контрольные плазмы разводятся в день исследования и служат для проверки правильности выполнения анализа.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **100-250 определений** при расходе латексного реагента по 80-30 мкл на 1 определение при работе на различных автоматических коагулометрах.

При использовании приборов с другим расходом реагентов количество определений будет отличаться от указанного.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых

транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Суспензию D-димер латексного реагента после вскрытия флакона допускается хранить при комнатной температуре (+18... +25 °C) не более двух недель или не более пяти недель – при температуре +2... +8 °C.

D-димер буфер и D-димер дилуент после вскрытия флаконов допускается хранить при комнатной температуре (+18... +25 °C) не более двух недель или не более пяти недель – при температуре +2... +8 °C.

Допускается хранение разведенного D-димер калибратора при комнатной температуре (+18... +25 °C) не более 12 ч, при температуре +2... +8 °C – в течение не более 24 ч, допускается однократное замораживание.

Не смешивать реагенты из наборов разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПин 2.1.7.2790-10).

### Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям

нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «Тех-D-димер-авто», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХ-D-ДИМЕР-AВТО

## Инструкция по применению набора реагентов для количественного определения D-димера в плазме крови

821

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор «Тех-D-димер-авто» предназначен для количественного определения D-димера в плазме крови человека иммунотурбидиметрическим методом при длине волны 500–900 нм. D-димер – один из важнейших маркеров активации свёртывания крови и фибринолиза, поскольку он формируется в кровотоке в результате образования и последующего лизиса плазмином стабилизированного фибрина. Высокий уровень D-димера будет регистрироваться у больных с тромбозами, тромбоэмболиями, ДВС-синдромом различного генеза.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** В тесте используются оригинальные моноклональные антитела, специфичные к D-димеру фибрина, но не к фибриногену и продуктам его деградации. Латексные частицы покрыты антителами к D-димеру, поэтому в присутствии плазмы, содержащей D-димер, происходит реакция антиген-антитело, что приводит к увеличению оптической плотности. Увеличение оптической плотности в реакционной кювете прибора пропорционально количеству D-димера в исследуемом образце (иммунотурбидиметрический метод).

### Состав набора:

1. **D-димер латексный реагент** (суспензия латексных частиц, покрытых мышиными моноклональными антителами к D-димеру), 4 мл – 4 фл.
2. **D-димер буфер**, 7 мл – 4 фл.
3. **D-димер дилюент**, 7 мл – 2 фл.
4. **D-димер калибратор** (лиофильно высушенная плазма крови человека, обогащенная D-димером), на 1 мл – 2 фл.

### Аналитические характеристики набора

Чувствительность латексного реагента к D-димеру для коагулометра составляет 50 нг/мл.

Чувствительность латексного реагента к D-димеру для фотометра составляет 100 нг/мл.

Линейность определения уровня D-димера для коагулометра – в диапазоне от 100 до 5000 нг/мл, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Линейность определения уровня D-димера для фотометра – в диапазоне от 200 до 5000 нг/мл, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Тест на «открытие» – не более 10 % отклонения.

Коэффициент вариации результатов определения уровня D-димера не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения уровня D-димера в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не более 10 %.

Моноклональные антитела, покрывающие частицы латекса, высокоспецифичны по отношению к D-димеру и не дают перекрестных реакций с фибриногеном и продуктами его деградации.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

Концентрация D-димера в любом образце может отличаться от концентрации, определенной с использованием тест-систем других производителей.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2a (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

Компоненты набора реагентов не содержат антитела к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### **Оборудование, материалы, реагенты**

- Коагулометр автоматический или иной прибор с оптическим методом регистрации и возможностью определения оптической плотности в диапазоне 500-900 нм.
- центрифуга лабораторная;
- дозатор на 0,05-1,0 мл;
- пробирки;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### **Приготовление анализируемых образцов**

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трехзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 г в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы для исследования – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 24 ч назад. Допускается однократное замораживание образцов плазмы пациентов при -20... -70 °С и хранение в течение 24 мес. Перед проведением исследования плазму следует быстро разморозить при +37 °С на водяной бане.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагентов к работе**

латексный реагент, буфер и дилуент в составе данного набора находятся в жидком состоянии и готовы к использованию.

Перед использованием латексного реагента флакон рекомендуется аккуратно встряхнуть, избегая образования пены.

Во флакон с плазмой-калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Перед использованием выдержать при комнатной температуре в течение не менее 10 мин.

Концентрация D-димера в плазме-калибраторе указана в паспорте к набору.

### **2. Проведение анализа**

Для построения калибровочной кривой необходимо использовать значение D-димера в плазме-калибраторе, указанное в паспорте к набору для данной серии. Калибровочную кривую необходимо строить каждый раз, когда используется новая серия набора, после замены прибора или технического обслуживания, а также, в случае, если результаты внутрилабораторного контроля качества выходят за рамки установленного диапазона.

#### **2.1. Определение D-димера на автоматическом коагулометре**

Коагулометр в автоматическом режиме смешивает исследуемую плазму с D-димер дилуентом, D-димер буфером и D-димер латексным реагентом, после чего регистрирует изменение оптической плотности и рассчитывает уровень D-димера.

В случае если в исследуемой плазме уровень D-димера выше максимального значения на калибровочной кривой, образец необходимо развести физиологическим (0,9 %) раствором натрия хлорида (в два или более раза) и провести повторное измерение уровня D-димера. Полученное значение уровня D-димера умножить на величину разведения.

Описание принципа работы автоматического коагулометра представлено в инструкции производителя автоматического коагулометра. Для конкретного производителя автоматического коагулометра на сайте ООО фирмы «Технология-Стандарт» размещены протоколы адаптации (<http://www.tehnologia-standart.ru>).

## 2.2. Определение D-димера на фотометре

Рекомендации к работе на фотометре:

1. Перед каждым новым измерением кювету промывать физиологическим (0,9 %) раствором натрия хлорида дважды.
2. Для установления нулевого значения отсчета необходимо использовать физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида.
3. В зависимости от используемой кюветы объемы плазмы и реагентов могут быть уменьшены или увеличены. При этом необходимо сохранить соотношение объемов, указанных в данной инструкции.

### А. Построение калибровочной кривой

Для построения калибровочной кривой необходимо приготовить дополнительные разведения плазмы-калибратора. Для этого в чистую пробирку добавить 0,1 мл плазмы-калибратора и 0,1 мл физиологического (0,9 %) раствора, перемешать (значение уровня D-димера указано в паспорте к набору). Последовательно развести плазму из пробирки физиологическим раствором в 2, 4, 8, 16 и 32 раза. Присвоить каждому разведению соответствующее значение уровня D-димера.

1. В кювету фотометра внести 0,1 мл одного из разведений плазмы-калибратора и 0,5 мл D-димер буфера.
2. Добавить 0,3 мл латексного реагента, хорошо перемешать в течение 5-10 с.
3. Дважды измерить оптическую плотность: исходное и через 3 мин инкубации реакционной смеси.
4. Определить величину изменения оптической плотности в течение 3 мин.
5. По полученным данным построить калибровочную кривую, используя координатную сетку (представлена в паспорте к набору).

### Б. Проведение анализа

Объемы используемых реагентов приведены для кюветы емкостью 1 мл.

1. В кювету фотометра внести 0,05 мл исследуемой или контрольной плазмы и 0,5 мл D-димер буфера.
2. Добавить 0,3 мл латексного реагента, хорошо перемешать в течение 5-10 с.
3. Дважды измерить оптическую плотность: исходное и через 3 мин инкубации реакционной смеси.
4. Определить величину изменения оптической плотности в течение 3 мин.

5. Используя калибровочную кривую, определить концентрацию D-димера в исследуемом образце.

## 3. Чтение результатов

D-димер присутствует в плазме крови практически здоровых людей, однако его уровень в норме, как правило, не превышает 250 нг/мл.

Повышение уровня D-димера характерно для различных вариантов внутрисосудистого свертывания крови (тромбозы магистральных сосудов, ТЭЛА, ДВС-синдром и др.), при лечении больных активаторами фибринолиза (препараты стрептокиназы, урокиназы и тканевого активатора пламиногена), в связи с чем метод используется в комплексе с определением концентрации фибриногена для контроля такой терапии.

**Примечание:** наиболее часто применяемые весовые единицы измерения соотносятся между собой следующим образом:

$$250 \text{ нг/мл} = 0,250 \text{ мкг/мл} = 0,250 \text{ мг/л} = 250 \text{ мкг/л}.$$

Для пересчета результатов в нг FEU/мл следует использовать следующую формулу:

$$\text{нг/мл} \times 2 = \text{нг FEU/мл}.$$

### 4. Внутрिलाбораторный контроль качества

При осуществлении внутрिलाбораторного контроля качества необходимо использовать набор контрольных плазм «Тех-D-димер контроль» (кат. № 813, № 817).

Контрольные плазмы разводятся в день исследования и служат для проверки правильности выполнения анализа.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **200-500 определений** при расходе латексного реагента по 80-30 мкл на 1 определение при работе на различных автоматических коагулометрах.

При использовании приборов с другим расходом реагентов количество определений будет отличаться от указанного.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами

перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Суспензию D-димер латексного реагента после вскрытия флакона допускается хранить при комнатной температуре (+18... +25 °C) не более двух недель или не более пяти недель – при температуре +2... +8 °C.

D-димер буфер и D-димер дилуент после вскрытия флаконов допускается хранить при комнатной температуре (+18... +25 °C) не более двух недель или не более пяти недель – при температуре +2... +8 °C.

Допускается хранение разведенного D-димер калибратора при комнатной температуре (+18... +25 °C) не более 12 ч, при температуре +2... +8 °C – в течение не более 24 ч, допускается однократное замораживание.

Не смешивать реагенты из наборов разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

### Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям норма-

тивной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «Тех-D-димер-авто», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХ-D-ДИМЕР-AВТО

## Инструкция по применению набора реагентов для количественного определения D-димера в плазме крови

809

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «Тех-D-димер-авто» предназначен для количественного определения D-димера в плазме крови человека иммунотурбидиметрическим методом при длине волны 500–900 нм. D-димер – один из важнейших маркеров активации свёртывания крови и фибринолиза, поскольку он формируется в кровотоке в результате образования и последующего лизиса плазмином стабилизированного фибрина. Высокий уровень D-димера будет регистрироваться у больных с тромбозами, тромбозмобилиями, ДВС-синдромом различного генеза.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** В тесте используются оригинальные моноклональные антитела, специфичные к D-димеру фибрина, но не к фибриногену и продуктам его деградации. Латексные частицы покрыты антителами к D-димеру, поэтому в присутствии плазмы, содержащей D-димер, происходит реакция антиген-антитело, что приводит к увеличению оптической плотности. Увеличение оптической плотности в реакционной кювете прибора пропорционально количеству D-димера в исследуемом образце (иммунотурбидиметрический метод).

### Состав набора:

1. **D-димер латексный реагент** (суспензия латексных частиц, покрытых мышиными моноклональными антителами к D-димеру), 10,5 мл – 3 фл.
2. **D-димер буфер**, 10,5 мл – 3 фл.
3. **D-Димер дилюент**, 10,5 мл – 2 фл.
4. **D-димер калибратор** (лиофильно высушенная плазма крови человека, обогащенная D-димером), на 1 мл – 3 фл.

### Аналитические характеристики набора

Чувствительность латексного реагента к D-димеру для коагулометра составляет 50 нг/мл.

Чувствительность латексного реагента к D-димеру для фотометра составляет 100 нг/мл.

Линейность определения уровня D-димера для коагулометра – в диапазоне от 100 до 5000 нг/мл, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Линейность определения уровня D-димера для фотометра – в диапазоне от 200 до 5000 нг/мл, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Тест на «открытие» – не более 10 % отклонения.

Коэффициент вариации результатов определения уровня D-димера не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения уровня D-димера в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не более 10 %.

Моноклональные антитела, покрывающие частицы латекса, высокоспецифичны по отношению к D-димеру и не дают перекрестных реакций с фибриногеном и продуктами его деградации.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

Концентрация D-димера в любом образце может отличаться от концентрации, определенной с использованием тест-систем других производителей.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

Компоненты набора реагентов не содержат антитела к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg.



При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### **Оборудование, материалы, реагенты**

- Коагулометр автоматический или иной прибор с оптическим методом регистрации и возможностью определения оптической плотности в диапазоне 500-900 нм.
- центрифуга лабораторная;
- дозатор на 0,05-1,0 мл;
- пробирки;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### **Приготовление анализируемых образцов**

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы для исследования – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 24 ч назад. Допускается однократное замораживание образцов плазмы пациентов при -20... -70 °C и хранение в течение 24 мес. Перед проведением исследования плазму следует быстро разморозить при +37 °C на водяной бане.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагентов к работе**

Латексный реагент, буфер и дилуент в составе данного набора находятся в жидком состоянии и готовы к использованию.

Перед использованием латексного реагента флакон рекомендуется аккуратно встряхнуть, избегая образования пены.

Во флакон с плазмой-калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин. Перед использованием выдержать при комнатной температуре в течение не менее 10 мин.

Концентрация D-димера в плазме-калибраторе указана в паспорте к набору.

### **2. Проведение анализа**

Для построения калибровочной кривой необходимо использовать значение D-димера в плазме-калибраторе, указанное в паспорте к набору для данной серии. Калибровочную кривую необходимо строить каждый раз, когда используется новая серия набора, после замены прибора или технического обслуживания, а также, в случае, если результаты внутрилабораторного контроля качества выходят за рамки установленного диапазона.

#### **2.1. Определение D-димера на автоматическом коагулометре**

Коагулометр в автоматическом режиме смешивает исследуемую плазму с D-димер дилуентом, D-димер буфером и D-димер латексным реагентом, после чего регистрирует изменение оптической плотности и рассчитывает уровень D-димера.

В случае если в исследуемой плазме уровень D-димера выше максимального значения на калибровочной кривой, образец необходимо развести физиологическим (0,9 %) раствором натрия хлорида (в два или более раза) и провести повторное измерение уровня D-димера. Полученное значение уровня D-димера умножить на величину разведения.

Описание принципа работы автоматического коагулометра представлено в инструкции производителя автоматического коагулометра. Для конкретного производителя автоматического коагулометра на сайте ООО фирмы «Технология-Стандарт» размещены протоколы адаптации (<http://www.tehnologia-standart.ru>).



## 2.2. Определение D-димера на фотометре

Рекомендации к работе на фотометре:

1. Перед каждым новым измерением кювету промывать физиологическим (0,9 %) раствором натрия хлорида дважды.
2. Для установления нулевого значения отсчета необходимо использовать физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида.
3. В зависимости от используемой кюветы объемы плазмы и реагентов могут быть уменьшены или увеличены. При этом необходимо сохранить соотношение объемов, указанных в данной инструкции.

### А. Построение калибровочной кривой

Для построения калибровочной кривой необходимо приготовить дополнительные разведения плазмы-калибратора. Для этого в чистую пробирку добавить 0,1 мл плазмы-калибратора и 0,1 мл физиологического (0,9 %) раствора, перемешать (значение уровня D-димера указано в паспорте к набору). Последовательно развести плазму из пробирки физиологическим раствором в 2, 4, 8, 16 и 32 раза. Присвоить каждому разведению соответствующее значение уровня D-димера.

1. В кювету фотометра внести 0,1 мл одного из разведений плазмы-калибратора и 0,5 мл D-димер буфера.
2. Добавить 0,3 мл латексного реагента, хорошо перемешать в течение 5-10 с.
3. Дважды измерить оптическую плотность: исходное и через 3 мин инкубации реакционной смеси.
4. Определить величину изменения оптической плотности в течение 3 мин.
5. По полученным данным построить калибровочную кривую, используя координатную сетку (представлена в паспорте к набору).

### Б. Проведение анализа

Объемы используемых реагентов приведены для кюветы емкостью 1 мл.

1. В кювету фотометра внести 0,05 мл исследуемой или контрольной плазмы и 0,5 мл D-димер буфера.
2. Добавить 0,3 мл латексного реагента, хорошо перемешать в течение 5-10 с.
3. Дважды измерить оптическую плотность: исходное и через 3 мин инкубации реакционной смеси.
4. Определить величину изменения оптической плотности в течение 3 мин.

5. Используя калибровочную кривую, определить концентрацию D-димера в исследуемом образце.

## 3. Чтение результатов

D-димер присутствует в плазме крови практически здоровых людей, однако его уровень в норме, как правило, не превышает 250 нг/мл.

Повышение уровня D-димера характерно для различных вариантов внутрисосудистого свертывания крови (тромбозы магистральных сосудов, ТЭЛА, ДВС-синдром и др.), при лечении больных активаторами фибринолиза (препараты стрептокиназы, урокиназы и тканевого активатора плазминогена), в связи с чем метод используется в комплексе с определением концентрации фибриногена для контроля такой терапии.

**Примечание:** наиболее часто применяемые весовые единицы измерения соотносятся между собой следующим образом:

$$250 \text{ нг/мл} = 0,250 \text{ мкг/мл} = 0,250 \text{ мг/л} = 250 \text{ мкг/л.}$$

Для пересчета результатов в нг FEU/мл следует использовать следующую формулу:  $\text{нг/мл} \times 2 = \text{нг FEU/мл}$ .

## 4. Внутрिलाбораторный контроль качества

При осуществлении внутрिलाбораторного контроля качества необходимо использовать набор контрольных плазм «Тех-D-димер контроль» (кат. № 813, № 817).

Контрольные плазмы разводятся в день исследования и служат для проверки правильности выполнения анализа.

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **350-1000 определений** при расходе латексного реагента по 80-30 мкл на 1 определение при работе на различных автоматических коагулометрах.

При использовании приборов с другим расходом реагентов количество определений будет отличаться от указанного.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °C в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Суспензию D-димер латексного реагента после вскрытия флакона допускается хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более двух недель или не более пяти недель – при температуре +2... +8 °С.

D-димер буфер и D-димер дилуент после вскрытия флаконов допускается хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более двух недель или не более пяти недель – при температуре +2... +8 °С.

Допускается хранение разведенного D-димер калибратора при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 12 ч, при температуре +2... +8 °С – в течение не более 24 ч, допускается однократное замораживание.

Не смешивать реагенты из наборов разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

### **Гарантийные обязательства**

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации

в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «Тех-D-димер-авто», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: [mail@tehnologia-standart.ru](mailto:mail@tehnologia-standart.ru). <http://www.tehnologia-standart.ru>.

### **Литература**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ХРОМОТЕХ- ПЛАЗМИНОГЕН

## Инструкция по применению набора реагентов для определения плазминогена на автоматических коагулометрах

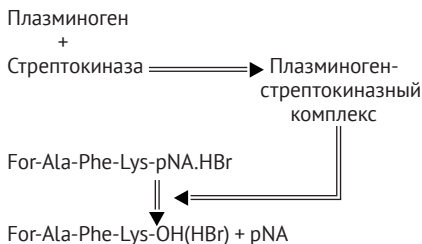
### Назначение

Набор «ХромоТех-Плазминоген» предназначен для определения уровня (в процентах от нормы) основного компонента фибринолитической системы – плазминогена на автоматических коагулометрах. Определение плазминогена используют при диагностике ДВС-синдрома и тромбофилий, контроле лечения препаратами, активирующими фибринолиз.

Набор предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** При добавлении стрептокиназы к разведенному образцу исследуемой плазмы образуется плазминоген-стрептокиназный комплекс, который обладает способностью расщеплять хромогенный субстрат. Скорость гидролиза нитроанилиновой связи хромогенного субстрата зависит от концентрации плазминогена. Автоматический коагулометр регистрирует изменение оптической плотности на фотометре при длине волны 405 нм с течением времени.



### Состав набора:

1. **Хромогенный субстрат** (лиофильно высушенный), на 7 мл – 1 фл.
2. **Стрептокиназа** (лиофильно высушенная), на 9 мл – 4 фл.

734

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

3. **Буфер трис-HCl** (концентрированный 20:1 раствор, 1 M, pH 7,4), 5 мл – 1 фл.
4. **Плазма-калибратор** (лиофильно высушенная), на 1 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения уровня плазминогена – в диапазоне от 5 до 140 %, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Тест на «открытие» – не более 10 % отклонения.

Чувствительность определения – не более 5 %.

Коэффициент вариации полученных результатов не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения уровня плазминогена в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2a (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны и проверены на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр автоматический;
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 1,0 мл и 1,0-10,0 мл;
- вода дистиллированная;
- пробирки;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, признаки гемолиза и полученной более 2 ч назад. Допускается замораживание образцов при -16...-70 °C на срок до 1 мес.

Дополнительное разведение плазмы для исследования проводится буфером трис-НСI на борту коагулометра автоматически.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение концентрированного буфера трис-НСI

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный буфер трис-НСI развести дистиллированной водой в **20 раз** (1 объем концентрированного буфера + 19 объемов воды), в результате получают рабочий буферный раствор.

### 1.2. Разведение стрептокиназы

В один флакон со стрептокиназой внести **9,0 мл** рабочего раствора буфера и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 2 мин. В результате получают раствор стрептокиназы.

### 1.3. Разведение хромогенного субстрата

В один флакон с хромогенным субстратом (далее по тексту – субстратом) внести **7,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 5 мин. В результате получают раствор субстрата.

### 1.4. Разведение плазмы-калибратора

Во флакон с плазмой-калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин.

Разведенную плазму-калибратор разлить по 0,5 мл в два герметично закрывающихся стеклянных силиконированных или пластиковых контейнера (флакона) и заморозить при температуре -16... -70 °C.

Порцию свежей или размороженной (на водяной бане при температуре +37 °C) плазмы-калибратора следует использовать для получения контрольных показателей поглощения в день проведения исследования.

В случае необходимости может дополнительно использоваться плазма-калибратор, аттестованная по данному показателю (заказывается дополнительно).

Уровень плазминогена в плазме-калибраторе указан в паспорте к набору.

### 2. Проведение анализа

Коагулометр в автоматическом режиме смешивает разведенную исследуемую плазму с растворами стрептокиназы и хромогенного субстрата, после чего регистрирует изменение оптической плотности и рассчитывает уровень плазминогена.

Описание и настройки представлены в инструкции производителя автоматического коагулометра

### 3. Чтение результатов

Результаты анализа выражают в процентах к норме.

В нормальной плазме концентрация плазминогена составляет **75-140 %**.

#### 4. Внутрिलाбораторный контроль качества

При осуществлении внутрिलाбораторного контроля качества рекомендуется использовать реагент с нормальным диапазоном значений «Тех-контроль Н» (кат. № 776), а также реагент с патологическим диапазоном значений «Тех-контроль П» (кат. № 777).

#### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **300 определений** при расходе раствора стрептокиназы по 117 мкл на 1 анализ (число анализов зависит от модели автоматического коагулометра).

Набор необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Время использования набора не должно превышать 2 мес с момента вскрытия его компонентов.

Раствор хромогенного субстрата можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 5 дней, при температуре +2... +8 °С – не более 2 недель, или при температуре -16... -70 °С – не более 2 месяцев в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Рабочий раствор буфера трис-HCl можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 2 дней или при температуре +2... +8 °С – не более 1 недели в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Раствор стрептокиназы можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 1 дня, при температуре +2... +8 °С – не более 2 недель, при температуре -16... -70 °С – не более 1 месяца в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Плазму-калибратор можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 6 ч и температуре +2... +8 °С – не более суток или не более 2 месяцев – в замороженном состоянии при температу-

ре -16... -70 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Не следует смешивать рабочие реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «ХромоТех-Плазминоген», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: [mail@tehnologia-standart.ru](mailto:mail@tehnologia-standart.ru). <http://www.tehnologia-standart.ru>.

#### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
3. Момот А.П., Мамаев А.Н., Баркаган З.С., Неведрова О.Е., Макаров В.А., Воюшина Т.Л., Ерин Д.Н. Метод определения плазминогена и его диагностическое значение. // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1999. – № 1. – С. 17-20.
4. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ХРОМОТЕХ- ПЛАЗМИНОГЕН

## Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации плазминогена в плазме крови

### Назначение

Набор **ХромоТех-Плазминоген** предназначен для определения количества (в процентах от нормы) основного компонента фибринолитической системы – плазминогена. Определение плазминогена используют для диагностики ДВС-синдрома и тромбофилий; выявления нарушений фибринолиза; контроля лечения фибринолитическими препаратами при тромбозах, тромбозамблиях, инфарктах.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** При добавлении стрептокиназы к разведенному образцу исследуемой плазмы образуется плазминоген-стрептокиназный комплекс, который обладает способностью расщеплять хромогенный субстрат. Скорость гидролиза нитроанилиновой связи хромогенного субстрата зависит от концентрации плазминогена. Регистрируем изменение оптической плотности (поглощения) на фотометре при длине волны 405 нм после добавления уксусной кислоты (двухточечный метод).

Плазминоген

+

Стрептокиназа  $\longrightarrow$  Плазминоген-  
стрептокиназный комплекс

For-Ala-Phe-Lys-pNA.HBr

For-Ala-Phe-Lys-OH(HBr) + pNA

### Состав набора:

1. **Хромогенный субстрат** (лиофильно высушенный), на 7,5 мл – 2 фл.
2. **Стрептокиназа** (лиофильно высушенная), на 7,5 мл – 2 фл.
3. **Буфер трис-HCl** (концентрированный 20:1; раствор 1 М; pH 7,4), 10 мл – 1 фл.

092

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

**Примечание:** объем буфера в составе набора рассчитан на проведение до 200 определений. Для проведения большего числа определений (до 300, см. п. 2.) необходима дополнительная поставка 1 флакона данного реагента (кат. № 027).

4. **Контрольная плазма** с известным содержанием плазминогена (лиофильно высушенная), на 1 мл – 2 фл.

5. **Кювета** с уменьшенной ёмкостью (на 1 мл), позволяющая сократить расход реагентов при определении на фотометрах с объёмом кюветы более 2-х мл – 1 шт.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения количества плазминогена – в диапазоне от 5 до 180 %.

Коэффициент вариации полученных результатов не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения концентрации плазминогена в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;

- физиологический (0,15 М) раствор хлорида натрия;
- уксусная кислота, 30 % раствор;
- спектрофотометр СФ-26, СФ-46 или аналогичные. Удобны в использовании фотометры с термостатом зарубежных производителей, например, RA-50 (*Bayer Diagnostics*). Используемая длина волны – 405 нм при ширине оптического пути кюветы не менее 1 см;
- секундомер;
- пипетки вместимостью 50 мкл, 0,5 и 1,0-10,0 мл;
- пробирки;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, пригодную для исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей густки и полученной более 2 ч назад. Допускается замораживание образцов при -16... -20 °С на срок до 1 мес.

**Приготовление разведенной исследуемой плазмы.** Перед проведением анализа 0,05 мл (50 мкл) исследуемой плазмы смешать в пробирке с 1,0 мл (1000 мкл) рабочего раствора буфера трис-НСI.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение концентрированного буфера трис-НСI

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный буфер развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного буфера + 19 объемов воды), в результате получают рабочий буферный раствор.

#### 1.2. Разведение стрептокиназы

В один флакон со стрептокиназой внести 7,5 мл рабочего раствора буфера и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 2 мин. В результате получают раствор стрептокиназы.

### 1.3. Разведение хромогенного субстрата

В один флакон с хромогенным субстратом (далее по тексту – субстратом) внести 7,5 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 5 мин. В результате получают раствор субстрата.

### 1.4. Разведение контрольной плазмы

В один флакон с контрольной плазмой внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин.

Разведенную контрольную плазму разлить по 0,1 мл в 3-5 герметично закрывающихся стеклянных силиконизированных или пластиковых контейнеров (флаконов) и заморозить при температуре -16... -20 °С.

Порцию свежей или размороженной (на водяной бане при температуре +37 °С) контрольной плазмы (в объеме 50 мкл) использовать для получения контрольных показателей поглощения в день проведения исследования.

Концентрация плазминогена в контрольной плазме указана в *Паспорте к набору*.

## 2. Проведение анализа

	Исследуемый образец	Контроль (бланк)
--	---------------------	------------------

*Пипеткой внести в пробирку:*

Рабочий буферный раствор	-	0,5 мл
--------------------------	---	--------

Разведенную исследуемую плазму	0,5 мл	-
--------------------------------	--------	---

Раствор стрептокиназы	0,5 мл	0,5 мл
-----------------------	--------	--------

*Перемешать и инкубировать при температуре +37 °С в течение 10 мин.*

Добавить хромогенный субстрат	0,5 мл	0,5 мл
-------------------------------	--------	--------

Через 120 секунд внести 30 % раствор уксусной кислоты, перемешать	1,0 мл	1,0 мл
---	--------	--------

*В течение 5-10 мин после внесения раствора уксусной кислоты определить поглощение (А) при длине волны 405 нм исследуемого образца плазмы против физиологического раствора хлорида натрия.*

В день проведения исследования анализы контрольной плазмы и контроля (бланка) выполняются однократно вне зависимости от количества образцов исследуемой плазмы.

Описание хода определения дано для работы на спектро-фотометрах и фотометрах, где кювета (с величиной оптического пути 1 см) имеет вместимость 1,0-1,5 мл. В этом случае набор ХромоТех-Антитромбин рассчитан на **60 определений**. При работе с фотометрами, объем кюветы которых 0,5-0,7 мл, возможно выполнение с данным набором реагентов до **120 определений**. При этом объем смешиваемых образцов и реагентов следует уменьшить в 2 раза.

При проведении анализа в микрокюветках (общий объем смешиваемых реагентов - 0,20-0,25 мл), расход каждого из реагентов кратно уменьшается в 10 раз, соответственно **число определений увеличивается до 300**.

### 3. Чтение результатов

Результаты анализа выражают в процентах к норме. Концентрацию плазминогена (**C**) вычисляют по формулам:

$$C_{\text{исслед. образца}} (\%) = (A_{\text{исслед. образца}} - A_{\text{бланка}}) \times \Phi П;$$

$$\Phi П = \frac{C_{\text{контрольной плазмы}} (\%) }{A_{\text{контрольной плазмы}} - A_{\text{бланка}}}$$

где:  $A_{\text{исслед. образца}}$  – поглощение (оптическая плотность) пробы с исследуемым образцом плазмы;  $A_{\text{контрольной плазмы}}$  – поглощение пробы (оптическая плотность) с контрольной плазмой;  $A_{\text{бланка}}$  – поглощение (оптическая плотность) бланка;  $\Phi П$  – фактор пересчета;  $C_{\text{контрольной плазмы}}$  – концентрация плазминогена в контрольной плазме.

В нормальной плазме концентрация плазминогена составляет **75-140 %**.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **60-300 определений** (число анализов зависит от объема кюветы).

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**12 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Время использования набора не должно превышать 2 мес с момента вскрытия его компонентов.

Раствор хромогенного субстрата можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 5 дней, при температуре +2... +8 °С – не более 2 недель, или при температуре -16... -20 °С – не более 1 месяца.

Рабочий раствор буфера трис-HCl можно хранить при комнатной температуре не более 2 дней или при температуре +2... +8 °С – не более 1 недели.

Раствор стрептокиназы можно хранить при комнатной температуре не более 1 дня, при температуре +2... +8 °С – не более 2 недель, при температуре -16... -20 °С – не более 1 месяца.

Контрольную плазму можно хранить при комнатной температуре не более 3 ч, и температуре +2... +8 °С – не более суток или не более 1 месяца – в замороженном состоянии при температуре -16... -20 °С.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Момот А.П., Мамаев А.Н., Баркаган З.С., Неведрова О.Е., Макаров В.А., Воюшина Т.Л., Ерин Д.Н. Метод определения плазминогена и его диагностическое значение. // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1999. – № 1. – С. 17-20.



# ФИБРИНОЛИЗ-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для исследования Xlla-калликреин-зависимого, спонтанного и индуцированного эуглобулинового фибринолиза



Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор **Фибринолиз-тест** предназначен для исследования фибринолиза при диагностике и контроле за лечением тромбозов и ДВС-синдромов по следующим методикам:

1. *Определение Xlla-калликреин-зависимого фибринолиза (Xlla-3I);*
2. *Определение спонтанного эуглобулинового фибринолиза;*

### Состав набора:

1. **Суспензия каолина** (концентрированная 10:1, 50 мг/мл), 10 мл – 1 фл.
2. **Кальция хлорид** (концентрированный 20:1 раствор 0,5 М), 10 мл – 1 фл.
3. **Буфер трис-НСI** (концентрированный 20:1 раствор, 1 М), 10 мл – 1 фл.
4. **Уксусная кислота** (10 % раствор), 10 мл – 1 фл.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- термобаня на +37 °C;
- секундомер;
- пипетки вместимостью 0,18, 0,2-1,0 и 5,0-10,0 мл;

- пробирки стеклянные;
- цилиндры мерные вместимостью 100 и 200 мл;
- вода дистиллированная;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

### Определение Xlla-калликреин-зависимого фибринолиза

**Принцип метода.** В основу метода положен факт ускорения лизиса эуглобулинов, полученных из обработанной каолином бедной тромбоцитами плазмы.

Из исследуемой плазмы выделяют эуглобулиновую фракцию, в которой с помощью каолина активирован “мост”: “фактор Xlla калликреин плазминоген”. Определяют время эуглобулинового лизиса при такой активации.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды), получают рабочий раствор кальция хлорида (0,277 %).

#### 1.2. Разведение концентрированного буфера

Перед определением, в соответствии с потребностью, концентрированный буфер трис-HCl развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды), получают рабочий раствор буфера трис-HCl.

#### 1.3. Приготовление рабочего раствора уксусной кислоты

Перед определением, в соответствии с потребностью, 10 % раствор уксусной кислоты развести дистиллированной водой в 10 раз (1 объем концентрированного раствора + 9 объемов воды), получают рабочий 1 % раствор уксусной кислоты.

#### 1.4. Суспензия каолина

Содержимое флакона с 10,0 мл концентрированной суспензии каолина перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой до **100,0 мл**. В результате получают рабочую 0,05 % суспензию каолина.

## 2. Проведение анализа

### 2.1. Получение активированной каолином фракции зуглобулинов плазмы

В пробирке последовательно смешать 0,5 мл плазмы, 7,5 мл дистиллированной воды, 0,25 мл рабочей 0,05 % суспензии каолина и 0,18 мл 1 % уксусной кислоты. Смесь инкубировать на водяной бане при температуре +37 °C в течение 30 мин, затем провести ее центрифугирование в течение 5-6 мин при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость слить, пробирку опрокинуть на фильтровальную бумагу и осушить в течение одной минуты. Оставшийся на дне пробирки зуглобулиновый осадок развести в 0,5 мл рабочего раствора буфера трис-HCl.

### 2.2. Определение времени каолин-активированного лизиса сгустка

К 0,5 мл раствора зуглобулинов в пробирке добавить 0,5 мл 0,277 % раствора

кальция хлорида, осторожно перемешать покачиванием пробирки (не встряхивая!) и инкубировать на водяной бане при температуре +37 °C. Регистрируют время с момента добавления кальция хлорида до полного (при +37 °C) растворения сгустка.

## 3. Чтение результатов

Результат выражают в минутах. В норме, при использовании набора, время XIIa-зависимого зуглобулинового лизиса составляет **4-10 мин**. Замедление лизиса наблюдается при нарушении внутреннего XIIa-зависимого фибринолиза за счет снижения уровня или недостаточной активации участвующих в реакции компонентов плазменных протеолитических систем (свертывания, калликреин-кининовой, фибринолиза). В связи с высокой лабильностью этих систем XIIa-ЗЛ может нарушаться при очень многих видах патологии – у большинства больных тромбозами, при синдроме ДВС, заболеваниях печени, иммунных и иммунокомплексных болезнях и др. При ДВС-синдроме отмечается закономерное угнетение XIIa-ЗЛ, начинающееся уже в первой фазе этого процесса.

Удлинение лизиса (до 30-60 мин и более) чаще всего обусловлено наличием в высоком титре ингибиторов фибринолиза, либо дефицитом плазминогена, реже – фактора XII, плазменного прекалликреина или высокомолекулярного кининогена. Для разграничения этих нарушений в систему дополнительно вводят стрептокиназу или урокиназу. При дефиците плазминогена они существенно не ускоряют процесс лизиса, а при дефиците остальных компонентов системы – нормализуют его.

## Определение спонтанного зуглобулинового фибринолиза

**Принцип метода.** Определяют время спонтанного лизиса сгустка, получаемого из зуглобулиновой фракции плазмы при добавлении к ней раствора кальция хлорида.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

Содержание раздела аналогично разделу 1 методики определения XIIa-калликреин-зависимого фибринолиза.

### 2. Проведение анализа

#### 2.1. Получение зуглобулиновой фракции плазмы

В пробирке последовательно смешать 8,0 мл дистиллированной воды, 0,18 мл

1 % уксусной кислоты и 0,5 мл плазмы. Компоненты смешать переворачиванием пробирки, которую затем инкубировать в сосуде с водой, охлажденной до температуры +2...+8 °С, в течение 30 мин. Затем смесь центрифугировать в течение 5-6 мин при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость слить, пробирку опрокинуть на фильтровальную бумагу и осушить в течение одной минуты. Оставшийся на дне пробирки осадок зуглобулинов развести в 0,5 мл рабочего раствора буфера трис-HCl.

## **2.2. Определение времени спонтанного лизиса сгустка**

К 0,5 мл раствора зуглобулинов в пробирке добавить 0,5 мл 0,277 % раствора кальция хлорида, осторожно перемешать покачиванием пробирки (не встряхивая!) и инкубировать на водяной бане при +37 °С. Регистрируют время с момента добавления кальция хлорида до полного (при +37 °С) растворения сгустка.

### **3. Чтение результатов**

Результат выражают в минутах. В норме время спонтанного лизиса зуглобулинов составляет **180-240 мин.** Укорочение времени лизиса свидетельствует об активации, а удлинение – об угнетении фибринолиза.

Метод может применяться для изучения потенциальной способности фибринолиза к активации "*in vivo*" при искусственной стимуляции выброса из эндотелия в кровь тканевого активатора плазминогена (ТПА). Для этого определяют время спонтанного зуглобулинового лизиса плазмы из крови, полученной из вены до и после компрессии сосудов конечности. Венозный стаз осуществляется путем наложения манжеты сфигмоманометра на плечо и поддержания в ней минимального АД (80 мм рт. ст.) в течение 15-20 мин. По истечении этого срока вторую порцию крови берут из локтевой вены той же руки до снятия манжеты и в ней определяют спонтанный зуглобулиновый лизис. Время лизиса сгустка после венозного стаза укорачивается в норме в 1,5 – 2 раза, а при недостаточном выходе в кровь ТПА – остается удлиненным.

## **Условия хранения и применения**

Набор рассчитан на проведение **400 анализов** по одному из приведенных тестов.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С

в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 2 мес с момента вскрытия его компонентов.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 1 дня или не более 2 дней – при температуре +2... +8 °С.

Рабочий раствор буфера можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 недели.

Рабочий (1 %) раствор уксусной кислоты можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2 дней.

Рабочую суспензию каолина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2 мес.

Следует отметить, что на результаты зуглобулиновых методов влияет изменение концентрации фибриногена у больных. Гиперфибриногенемия способствует удлинению времени лизиса зуглобулинов, гипофибриногенемия – укорочению.

## **Литература**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ЭКСПРЕСС-ЛЮПУС-ТЕСТ

193

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению набора реагентов для определения волчаночного антикоагулянта

Каталожный  
номер набора

### Назначение

Набор **Экспресс-Люпус-тест** предназначен для скрининга антикоагулянтов волчаночного типа (ВА или люпус-антикоагулянта). В плазме крови ВА связываются с отрицательно заряженными фосфолипидами и белково-фосфолипидными комплексами и тормозят активацию и взаимодействие между собой плазменных факторов свертывания крови. Наиболее четко эти нарушения выявляются в фосфолипид-зависимых коагуляционных тестах.

Наличие в плазме ВА сопровождается рецидивирующими тромбозами вен и артерий, нарушениями мозгового кровообращения (головные боли, обмороки, динамические расстройства мозгового кровообращения, парезы, эписиндром, нарушения зрения и др.), фетоплацентарной недостаточностью, привычным невынашиванием беременности (выкидыши, внутриутробная гибель плода), тромбоцитопенией, реже – кровотоочивостью микроциркуляторного типа, полиаллергией, другими иммунными нарушениями, склонностью к развитию ДВС-синдрома.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Определение ВА в оригинальном скрининговом варианте [3] основано на сравнительной оценке результатов в плазме больного активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ) с двумя реагентами: высокочувствительным к ВА (АПТВ<sub>ВА+</sub>) и низкочувствительным к ВА (АПТВ<sub>ВА-</sub>).

Наличие в плазме ВА ведет к сравнительно большому удлинению времени свертывания в тесте с АПТВ<sub>ВА+</sub>, чем с АПТВ<sub>ВА-</sub>-реагентом.

Это различие не выявляется при других причинах удлинения свертывания, в частности, при дефиците факторов свертывания, наличии их ингибиторов, при лечении гепарином (до концентрации гепарина 0,25 ед./мл плазмы) и непрямыми антикоагулянтами. При всех этих ситуациях имеется сходная гипокоагуляция в АПТВ<sub>ВА+</sub> и АПТВ<sub>ВА-</sub>-тестах.

### Состав набора:

1. **АПТВ-реагент с низкой чувствительностью к ВА** (АПТВ<sub>ВА-</sub>-реагент) (лиофильно высушенный) – 2 фл.
2. **АПТВ-реагент с высокой чувствительностью к ВА** (АПТВ<sub>ВА+</sub>-реагент), 5 мл – 1 фл.
3. **Контрольная плазма**, положительная на ВА (лиофильно высушенная) – 1 фл.
4. **Кальция хлорид** (концентрированный 20:1 раствор, 0,5 М) – 2 мл – 1 фл.

**Примечание:** Для проведения исследований необходима также свежеполученная цитратная бедная тромбоцитами плазма здорового человека или РНП-плазма ООО фирмы "Технология-Стандарт" (кат. № 012).

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения АПТВ не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения АПТВ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

## Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, термобаня на +37 °С);
- пипетки вместимостью 0,1 и 0,2-1,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

**Внимание!** Для получения воспроизводимых и точных результатов особое внимание должно уделяться соблюдению режима центрифугирования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы больных, содержащей гепарин, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. АПТВ<sub>BA+</sub> -реагент

АПТВ<sub>BA+</sub> -реагент входит в состав набора разведенным и готовым к использованию. Рекомендуется отливать необходимое на день работы количество реагента в отдельную пробирку, основной же флакон необходимо постоянно хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока использования набора.

Перед применением встряхнуть до получения гомогенной суспензии.

#### 1.2. Разведение АПТВ<sub>BA</sub> -реагента

В один из флаконов с АПТВ<sub>BA</sub> -реагентом внести **2,5 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 2 мин, после чего полученную суспензию дополнительно гомогенизировать пипетированием, избегая

образования пены. В результате получают раствор АПТВ<sub>BA</sub> -реагента, который до использования должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 15 мин. Перед применением встряхнуть до получения гомогенной суспензии.

### 1.3. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида из флакона развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды). Получают рабочий (0,277 %) раствор кальция хлорида (далее по тексту – раствор кальция хлорида).

### 1.4. Разведение контрольной плазмы, положительной на ВА

Во флакон с контрольной плазмой, положительной на ВА, внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин.

Контрольная плазма разводится в день начала использования реагентов набора "Экспресс-Люпус-тест" и служит для проверки правильности выполнения анализа.

### 2. Проведение анализа

**Этап 1.** В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл плазмы больного.

2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

3. Добавить 0,1 мл АПТВ<sub>BA+</sub> -реагента, имеющего комнатную температуру.

4. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 3 мин.

5. К смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (предварительно подогретого до +37 °С) и зарегистрировать время свертывания.

Аналогично, с применением АПТВ<sub>BA+</sub> -реагента, определить время свертывания в контрольной нормальной плазме (или РНП-плазме).

**Этап 2.** В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл плазмы больного.

2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

3. Добавить 0,1 мл разведенного АПТВ<sub>BA</sub> -реагента, имеющего комнатную температуру.

4. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 3 мин.

5. К смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и зарегистрировать время свертывания.

Аналогично, с использованием АПТВ<sub>BA+</sub>-реагента, определить время свертывания в контрольной нормальной плазме (или РНП-плазме ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 012).

### 3. Чтение результатов

Вычисляют показатель **NR** по формулам:

$$R1 = \frac{t1}{t2}; \quad R2 = \frac{t3}{t4}; \quad NR = \frac{R1}{R2},$$

где: **t1** – время свертывания плазмы больного с реагентом АПТВ<sub>BA+</sub>;

**t2** – время свертывания контрольной нормальной плазмы с реагентом АПТВ<sub>BA+</sub>;

**t3** – время свертывания плазмы больного с реагентом АПТВ<sub>BA+</sub>;

**t4** – время свертывания контрольной нормальной плазмы с реагентом АПТВ<sub>BA+</sub>;

**R1** – показатель удлинения времени свертывания у больного, в сравнении с контролем, в тесте с АПТВ<sub>BA+</sub>-реагентом;

**R2** – показатель удлинения времени свертывания у больного, в сравнении с контролем, в тесте с АПТВ<sub>BA+</sub>-реагентом;

**NR** – отношение, которое количественно оценивает гипокоагуляционный эффект ВА.

У здоровых людей и больных с разными видами патологии гемостаза, но без наличия в плазме крови ВА, показатель **NR** в среднем равен 0,99 ( $\sigma=0,10$ ), с пределами нормальных колебаний ( $\pm 2\sigma$ ) **от 0,79 до 1,19**. Диапазон значений NR от 1,2 до 1,3 является сомнительным результатом и требует повторного обследования, а также сопоставления с другими тестами для выявления ВА. Если NR равен или превышает **1,3**, высока вероятность наличия волчаночного антикоагулянта.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на исследование **50-100 образцов** плазмы крови при расходе АПТВ-реагентов по 0,1-0,05 мл на анализ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 2 недель с момента вскрытия его компонентов.

АПТВ<sub>BA+</sub>-реагент можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 7 дней и в течение всего срока использования набора при температуре +2... +8 °С. Замораживание не допускается.

АПТВ<sub>BA+</sub>-реагент можно хранить при комнатной температуре не более 6 ч и не более 7 дней при температуре +2... +8 °С. Замораживание не допускается.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при +37 °С не более 6 ч, при комнатной температуре не более 1 дня или не более 2 дней в герметично закрытом флаконе при температуре +2... +8 °С.

Контрольную плазму, положительную на ВА, можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Момот А.П., Мамаев А.Н., Сердюк Г.В. Способ диагностики антифосфолипидного синдрома. Патент РФ №2186391 от 27 июля 2002 г.

# ЛЮПУС-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения антикоагулянтов волчаночного типа

011

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор **Люпус-тест** предназначен для определения антикоагулянтов волчаночного типа (ВА). В плазме крови ВА связываются с фосфолипидными мембранами и тормозят активацию и взаимодействие между собой плазменных факторов свертывания крови. Наиболее четко эти нарушения выявляются в фосфолипид-зависимых коагуляционных тестах при использовании низких концентраций активаторов процесса свертывания.

Наличие в плазме ВА сопровождается рецидивирующими тромбозами вен и артерий, нарушениями мозгового кровообращения (головные боли, обмороки, динамические расстройства мозгового кровообращения, парезы, эписиндром, нарушения зрения и др.), фетоплацентарной недостаточностью, привычным невынашиванием беременности (выкидыши, внутриутробная гибель плода), тромбоцитопенией, реже – кровоточивостью микроциркуляторного типа, полиаллергией, другими иммунными нарушениями, склонностью к развитию ДВС-синдрома.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Определение ВА основано на том, что гипокоагуляция, обусловленная этими ингибиторами свертывания и выявляемая фосфолипид-зависимыми тестами, не корректируется нормальной бедной тромбоцитами плазмой (БТП), но исправляется добавлением к исследуемой БТП разрушенных нормальных тромбоцитов (тромбоцитина). В связи с этим используемые для диагностики ВА тесты подразделяются на следующие группы: 1) скрининговые фосфолипид-зависимые, дающие представление о нарушениях, связанных с эффектами ВА; 2) подтверждающие, в которых устанавливается, что гипокоагуляция в тестах первой группы устраняется или значительно корректируется добавлением фосфолипидных мембран, но не нормальной контрольной БТП (этим исключают гипокоагуляцию, обусловленную дефицитом плазменных факторов свертывания).

### Состав набора:

1. **Каолин** (суспензия легкого каолина) 10 мл – 4 фл.
2. **Тромбопластин** (лиофильно высушенный) – 2 фл.
3. **Лебетокс** (лиофильно высушенный активатор фактора X) – 1 фл.
4. **Тромбоцитин** (лиофильно высушенный реагент из отмытых и разрушенных тромбоцитов человека) – 2 фл.
5. **Буфер для разведений** (концентрированный 20:1 раствор), 10 мл – 1 фл.
6. **Кальция хлорид** (концентрированный 20:1 раствор, 5,54 %), 10 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения протромбинового времени с разведенным тромбопластином – в диапазоне от 30 до 120 с, для каолинового времени – от 50 до 300 с, для лебетоксового времени – от 30 до 120 с. Коэффициент вариации результатов определения времени свертывания по всем тестам не превышает 10%.

Допустимый разброс результатов определения времени свертывания по всем тестам в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10%.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.



Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

## Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, термобаня на +37 °С);
- весы торсионные (BT-500 или аналогичные);
- ступка фарфоровая с пестиком;
- пипетки вместимостью 0,05; 0,1-1,0 и 5,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- цилиндр мерный вместимостью 200 мл;
- вода дистиллированная;
- цитратная бедная тромбоцитами плазма здорового человека, полученная в день исследования (контрольная нормальная плазма);
- перчатки резиновые хирургические.

## Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 1000 об/мин (240 г) в течение 7 мин. Богатую тромбоцитами плазму переносят в другую пробирку и повторно центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200-1400 g) в течение 15 мин, в результате получают бедную тромбоцитами плазму (БТП).

**Внимание!** Для получения воспроизводимых и точных результатов особое внимание должно уделяться соблюдению режима и последовательности центрифугирования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование - сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы больных, содержащей гепарин, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови. БТП используют во всех исследованиях.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Суспензия легкого каолина

Используют в готовом виде. Перед употреблением встряхивают до получения гомогенной суспензии.

### 1.2. Разведение буфера

Содержимое флакона с концентрированным буфером для разведений перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой до **200,0 мл**. В результате получают рабочий раствор буфера.

### 1.3. Разведение тромбопластина

Проводят в соответствии с описанием в *Паспорте к набору*.

В контрольной нормальной плазме время свертывания в тесте с разведенным тромбопластином (см. п. *Проведение анализа*) должно составлять **45-55 с**. При другой активности тромбопластина в пробирку дополнительно ввести тромбопластин или кальция хлорид, осуществляя подгонку активности к нужному уровню.

### 1.4. Разведение лебетокса

Проводят в соответствии с описанием в *Паспорте к набору*.

В норме время свертывания в лебетоксовом тесте (см. п. *Проведение анализа*) при мануальном исследовании должно быть равным **45-55 с**, а при исследовании на коагулометре – **35-45 с**. При другой активности яда в пробирку дополнительно ввести маточный раствор лебетокса или дистиллированную воду, осуществляя подгонку активности яда к нужному уровню. Это предварительное тестирование раствора лебетокса следует проводить лишь на свежей цитратной бедной тромбоцитами плазме здоровых людей (контрольной нормальной плазме). Лиофилизированные и замороженные образцы контрольной плазмы, в т.ч. РНП-плазма, для этой цели не пригодны. Рекомендуется также для выполнения тестов со змеиными ядами (лебетоксом) использовать отдельные посуду, наконечники для пипеток, пробирки и кюветы.

### 1.5. Разведение тромбоцитина

Проводят в соответствии с описанием в *Паспорте к набору*.

### 1.6. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида из флакона развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды), получают рабочий (0,277 %) раствор кальция хлорида (далее по тексту – раствор кальция хлорида).



## 2. Проведение анализа

### I этап – скрининговые тесты

#### Определение каолинового времени (КВ):

1. К 0,1 мл исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл суспензии каолина.
2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида и включить секундомер.
4. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки. Параллельно определяют каолиновое время в контрольной нормальной плазме.

**Результат:** Диапазон нормы КВ составляет **75 до 105 с**, однако нормативные показатели зависят от особенностей преаналитического этапа исследования, техники определения и устанавливаются в каждой лаборатории на основании исследования группы здоровых людей. Замедление свертывания в каолиновом тесте по сравнению с контролем более, чем в 1,25 раза может быть связано с действием ВА.

#### Определение тромбопластинового времени с “разведенным” тромбопластином (ТВРТ):

1. Предварительно приготовить смесь из раствора кальция хлорида (0,277 %) и тромбопластина (в соответствии с описанием в Паспорте к набору). Тромбопластин-кальциевую смесь (ТКС) прогреть на водяной бане 10-15 мин при +37 °С.
2. К 0,1 мл исследуемой плазмы крови, взятой в пробирку (предварительно прогретой в течение 30 с на водяной бане при температуре +37 °С), добавить 0,2 мл прогретой ТКС и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

Параллельно определяют ТВРТ в контрольной нормальной плазме.

**Результат:** В норме тест с “разведенным” тромбопластином дает свертывание в пределах **45-55 с**. Все значения, превышающие в 1,2 раза аналогичный показатель в контрольной плазме, считают отклонением от нормы, которое может быть связано с ВА.

#### Определение лебетоксового времени свертывания:

1. К 0,1 мл исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл раствора лебетокса.

2. Пробирку встряхнуть и поместить на 30 с на водяную баню при температуре +37 °С.

3. К смеси добавить 0,1 мл 0,277 % раствора кальция хлорида (предварительно прогретого на водяной бане при +37 °С) и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

Параллельно определяют лебетоксовое время в контрольной нормальной плазме.

**Результат:** В норме лебетоксовое время свертывания при мануальном исследовании должно быть равным **45-55 с**, а при исследовании на коагулометре – **35-45 с**. Замедление свертывания по сравнению с контролем более, чем в 1,2 раза, может быть связано с действием ВА.

### II этап – подтверждающие тесты

*Определения выполняются только в тех тестах, в которых было выявлено замедление свертывания при скрининговом обследовании.*

#### А. Пробы с добавлением контрольной нормальной плазмы

##### Ход определения:

1. К 0,05 мл исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,05 мл контрольной нормальной плазмы, а также 0,1 мл суспензии каолина, тромбопластина или лебетокса.
2. Пробирку встряхнуть и поместить на 30 с (при определении тромбопластинового или лебетоксового времени) или на 3 мин (при определении каолинового времени) на водяную баню при температуре +37 °С.
3. К смеси добавить 0,1 мл 0,277 % раствора кальция хлорида и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

**Результат:** При гипокоагуляции, обусловленной ВА, добавление контрольной нормальной плазмы не нормализует время свертывания. В отличие от этого, при гипокоагуляции, связанной с дефицитом плазменных факторов свертывания, происходит нормализация показателей тестов.

#### Б. Подтверждающие пробы с тромбоцитами (тромбоцитиним)

##### Ход определения:

1. К 0,05 мл исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,05 мл раствора тромбоцитина, а также 0,1 мл суспензии каолина или лебетокса.

2. Пробирку встряхнуть и поместить на 30 с (при определении тромбопластинового или лебетоксового времени) или на 3 мин (при определении каолинового времени) на водяную баню при температуре +37 °С.

3. К смеси добавить 0,1 мл 0,277 % раствора кальция хлорида и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки. При определении ТВРТ следует добавить 0,2 мл тромбопластин-кальциевой смеси.

Параллельно и по аналогичной методике определить время свертывания в смеси контрольной нормальной плазмы с тромбоцитинном.

**Результат:** При наличии ВА в подтверждающих пробах с тромбоцитинном в исходно нарушенных коагуляционных тестах происходит полная или очень выраженная нормализация свертывания (в сравнении с результатом, полученным на смеси контрольной нормальной плазмы с тромбоцитинном).

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан для исследования не менее **200 образцов** плазмы крови.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 1 мес с момента вскрытия его компонентов.

Суспензию легкого каолина после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес.

Рабочий раствор буфера можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес.

Разведённый тромбопластин можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2-х недель.

Тромбопластин-кальциевую смесь можно хранить при комнатной температуре не более 8 ч и при температуре +37 °С – 3 ч.

Маточный раствор лебетокса можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 месяца.

Рабочий раствор лебетокса можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 3 дней.

Маточный раствор тромбоцитина можно хранить при температуре -16... -20 °С не более 2-х недель. Рабочий раствор тромбоцитина можно хранить при комнатной температуре не более 1 дня.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при комнатной температуре не более 1 дня или в герметично закрытом флаконе не более 2 дней при температуре +2... +8 °С.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ТЕХ-ФАКТОР VIII-ТЕСТ

274

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению набора реагентов для определения активности фактора VIII в плазме крови

Каталожный  
номер набора

### Назначение

Набор **Тех-Фактор VIII-тест** предназначен для определения активности фактора VIII в плазме крови. Определение фактора VIII используется для диагностики гемофилии А, для контроля заместительной терапии больных гемофилией А концентратами фактора VIII, а также для диагностики тромбофилии, обусловленной повышенным уровнем фактора VIII.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Определяют время свертывания плазмы крови в смеси, содержащей дефицитную по фактору VIII плазму, разведенную исследуемую плазму и АПТВ-реагент, в присутствии ионов кальция. Количественное определение активности фактора VIII выполняют по графику зависимости активности фактора VIII (в %) от времени свертывания в АПТВ-тесте.

### Состав набора:

1. **Дефицитная по фактору VIII плазма** (лиофильно высушенная плазма крови человека, уровень фактора VIII в которой не выше 1 %), на 2 мл – 1 фл.
2. **Контрольная плазма** (пулированная лиофильно высушенная плазма крови человека с известным содержанием фактора VIII), на 1 мл – 1 фл.
3. **АПТВ-реагент** (раствор эллаговой кислоты, содержащий мозговые фосфолипиды кролика), 2,5 мл – 1 фл.
4. **Кальция хлорид** 0,025 М, 10 мл – 1 фл.
5. **Буфер трис-НСl** (концентрированный 20:1; 1 М, рН 7,4), 5 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения фактора VIII находится в диапазоне от 1 до 100 %.

Коэффициент вариации результатов определения не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения активности фактора VIII в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, термобаня на +37 °С);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1, 0,5 и 0,2-1,0 мл;
- мерный цилиндр на 100 мл;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин

(1200 г) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад.

Перед проведением анализа все исследуемые образцы развести рабочим раствором буфера в 5 раз (**0,1 мл** образца + **0,4 мл** рабочего раствора буфера).

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

#### 1.1. Разведение дефицитной по фактору VIII плазмы

Во флакон с дефицитной по фактору VIII плазмой внести **2,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) в течение 3 мин. Перед использованием дефицитная по фактору VIII плазма должна быть выдержана при комнатной температуре в течение 15 мин.

#### 1.2. Разведение контрольной плазмы

Во флакон с контрольной плазмой внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре в течение 3 мин. Перед использованием контрольная плазма должна быть выдержана при комнатной температуре в течение 15 мин.

#### 1.3. Приготовление АПТВ-реагента

АПТВ-реагент готов к применению, перед использованием встряхнуть.

#### 1.4. Приготовление раствора кальция хлорида

Кальция хлорид готов к применению.

#### 1.5. Разведение концентрированного буфера

Содержимое флакона с концентрированным буфером трис-НСl перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой до **100 мл**. В результате получают рабочий раствор буфера.

## Приготовление разведений контрольной плазмы для построения калибровочного графика

Пробирка, №	1	2	3	4	5	6
Буфер, мл	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Контрольная плазма с аттестованным значением активности фактора VIII (100%)	0,2 мл	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Перемешать и перенести в другую пробирку	▼ L 0,5 мл	▲▼ L 0,5 мл	▲▼ L 0,5 мл	▲▼ L 0,5 мл	▲▼ L 0,5 мл	▲ L 0,1 мл
Получаемое разведение	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:500
Активность фактора VIII	100 %	50 %	25 %	12,5 %	6,25 %	1 %

### 1.6. Построение калибровочной кривой

Для каждого разведения контрольной плазмы выполнить определения дважды, средний результат отметить на калибровочной кривой. Соединить нанесенные точки. Калибровочная кривая строится на координатной сетке, представленной в *Паспорте к набору*.

### 2. Проведение анализа

#### Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл разведенной в 5 раз исследуемой плазмы (или одного из разведений контрольной плазмы при построении калибровочного графика).

2. В кювету добавить 0,1 мл дефицитной по фактору VIII плазмы и прогреть смесь при +37 °С в течение 1 мин.

3. В кювету добавить 0,1 мл АПТВ-реагента, имеющего комнатную температуру.

4. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также *Инструкцию к коагулометру*).

5. Используя калибровочную кривую, найти активность фактора VIII.

#### Мануальный вариант:

1. К 0,1 мл разведенной в 5 раз исследуемой плазмы (или одного из разведений контрольной плазмы при построении калибровочного графика), взятой в пробирку, добавить 0,1 мл дефицитной по фактору VIII плазмы и 0,1 мл АПТВ-реагента.

2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.

3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и включить секундомер.
4. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.
5. Используя калибровочную кривую, найти активность фактора VIII.

В норме уровень фактора VIII находится в диапазоне **50-150 %**.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **20-40 анализов** при расходе реагентов по 0,1-0,05 мл на одно определение.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Во вскрытом флаконе АПТВ-реагент должен находиться в течение рабочего дня при комнатной температуре (+18... +25 °С), по окончании которого реагент следует хранить при температуре +2... +8 °С. Такое чередование температурного режима допускается до полного расходования объема АПТВ-реагента на протяжении 2 недель.

После вскрытия раствор кальция хлорида в герметично закрытом флаконе следует хранить при температуре +2... +8 °С. Необходимый для проведения исследований (на протяжении рабочего дня) объем раствора кальция хлорида необходимо отлить в отдельную пробирку или флакон, где этот раствор может храниться при температуре +37 °С в течение 4 ч или при комнатной температуре не более 1 дня. Не допускается сливание остатков этого раствора после прогревания во вскрытый герметично закрытый флакон с хранящимся при температуре +2... +8 °С раствором кальция хлорида. Во вскрытом флаконе раствор кальция хлорида может храниться до полного расходования на протяжении 2 недель.

Разведенную контрольную плазму можно использовать в течение 3 ч в условиях хранения при комнатной температуре (+18...+25 °С), возможно замораживание при температуре -16... -20 °С на срок до двух недель.

Разведенную дефицитную по фактору VIII плазму можно использовать в течение 3 ч в условиях хранения при комнатной температуре (+18... +25 °С), возможно замораживание при температуре -16... -20 °С на срок до двух недель.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ДЕФИЦИТНАЯ ПО ФАКТОРУ VIII ПЛАЗМА

## Инструкция

014Каталожный  
номер набораТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Реагент является лиофилизированной плазмой крови с уровнем фактора VIII не более 1 %. Плазма стабилизирована цитратом натрия, не содержит ингибитор фактора VIII, обследована на инфицированность вирусами гепатита В и ВИЧ.

Дефицитную по фактору VIII плазму применяют для определения уровня этого фактора у больных при диагностике гемофилии А и контроле за эффективностью лечения криопреципитатом или концентратами фактора VIII.

### Фасовка:

**Дефицитная по фактору VIII плазма**  
(лиофильно высушенная), на 1 мл – во флаконе.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Дефицитная по фактору VIII плазма используется только для применения *in vitro*.

При работе с дефицитной по фактору VIII плазмой следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, водяная баня на +37 °С);
- перчатки резиновые хирургические;
- пипетка вместимостью 1,0 мл;
- дистиллированная вода.

### Рекомендации по использованию

Во флакон с дефицитной по фактору VIII плазмой внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать 25-30 мин при комнатной температуре. Определение уровня фактора VIII в исследуемой плазме проводят в соответствии с унифицированной методикой одностадийного количественного определения фактора VIII и IX (*Гематология и трансфузиология. – 1991.- № 4. – С. 33). См. также Инструкцию к набору реагентов «Тех-Фактор VIII-тест» ООО фирмы «Технология-Стандарт» (кат. № 274).*

### Условия хранения и применения

Хранение дефицитной по фактору VIII плазмы должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**15 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Дефицитную по фактору VIII плазму после разведения можно хранить при температуре +18... +25 °С не более 3 ч, не замораживать.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ТЕХ-ФАКТОР IX-ТЕСТ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения активности фактора IX в плазме крови

679

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор **Тех-Фактор IX-тест** предназначен для количественного определения коагуляционного фактора IX в плазме крови. Определение фактора IX используется для диагностики гемофилии В, для контроля заместительной терапии больных гемофилией В концентратами фактора IX.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Определяют время свертывания плазмы крови в смеси, содержащей дефицитную по фактору IX плазму, разведенную исследуемую плазму и АПТВ-реагент, в присутствии ионов кальция. Количественное определение активности фактора IX выполняют по графику зависимости активности фактора IX (в %) от времени свертывания в АПТВ-тесте.

### Состав набора

1. **Дефицитная по фактору IX плазма** (лиофильно высушенная плазма крови человека, уровень фактора IX в которой не выше 1 %), на 2 мл – 1 фл.
2. **Контрольная плазма** (лиофильно высушенная контрольная плазма крови человека с известным содержанием фактора IX), на 1 мл – 1 фл.
3. **АПТВ-реагент** (раствор эллаговой кислоты, содержащий фосфолипиды кролика), 2,5 мл – 1 фл.
4. **Кальция хлорид 0,025 М**, 10 мл – 1 фл.
5. **Буфер трис-НСI** (концентрированный 20:1; 1 М, pH 7,4), 5 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Линейность определения – в диапазоне от 1 до 100 %.

Коэффициент вариации результатов определения АПТВ не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения уровня фактора IX в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %. Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, термобаня на +37 °C);
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,1, 0,5 и 0,2-1,0 мл;
- мерный цилиндр на 100 мл;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате

получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад. Перед проведением анализа все исследуемые образцы развести рабочим раствором буфера в 5 раз (**0,1 мл** образца + **0,4 мл** рабочего раствора буфера).

## Приготовление реagensов и проведение анализа

### 1. Подготовка реagensов к работе

#### 1.1. Разведение дефицитной по фактору IX плазмы

Во флакон с дефицитной по фактору IX плазмой внести **2,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре в течение 3 мин. Перед использованием дефицитная по фактору IX плазма должна быть выдержана при комнатной температуре в течение 15 мин.

#### 1.2. Разведение контрольной плазмы

Во флакон с контрольной плазмой внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) в течение 3 мин. Перед использованием контрольная плазма должна быть выдержана при комнатной температуре в течение 15 мин.

#### 1.3. Приготовление АПТВ-реagensа

АПТВ-реagens готов к применению, перед использованием встряхнуть.

#### 1.4. Приготовление раствора кальция хлорида

Кальция хлорид готов к применению.

#### 1.5. Разведение концентрированного буфера

Содержимое флакона с концентрированным буфером трис-HCl перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой до **100 мл**. В результате получают рабочий раствор буфера.

## Приготовление разведений контрольной плазмы для построения калибровочного графика

Пробирка, №	1	2	3	4	5	6
Буфер, мл	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Контрольная плазма с аттестованным значением активности фактора IX (100 %)	0,2 мл	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Перемешать и перенести в другую пробирку	▼ 0,5 мл	▲▼ 0,5 мл	▲▼ 0,5 мл	▲▼ 0,5 мл	▲▼ 0,5 мл	▲ 0,1 мл
Получаемое разведение	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:500
Активность фактора IX	100 %	50 %	25 %	12,5 %	6,25 %	1 %

### 1.6. Построение калибровочной кривой

Для каждого разведения контрольной плазмы выполнить определения дважды, средний результат отметить на калибровочной кривой. Соединить нанесенные точки.

### 2. Проведение анализа

#### Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл разведенной в 5 раз исследуемой плазмы (или одного из разведений контрольной плазмы при построении калибровочного графика).

2. В кювету добавить 0,1 мл дефицитной по фактору IX плазмы и прогреть смесь при +37 °C в течение 1 мин.

3. В кювету добавить 0,1 мл АПТВ-реagensа, имеющего комнатную температуру.

4. Через 3 мин. к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °C) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

5. Используя калибровочную кривую, найти активность фактора IX.

#### Мануальный вариант:

1. К 0,1 мл разведенной в 5 раз исследуемой плазмы (или одного из разведений контрольной плазмы при построении калибровочного графика), взятой в пробирку, добавить 0,1 мл дефицитной по фактору IX плазмы и 0,1 мл АПТВ-реagensа.

2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °C.



3. Через 3 мин. к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и включить секундомер.
4. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.
5. Используя калибровочную кривую, найти активность фактора IX.

В норме уровень фактора IX находится в диапазоне **50-150 %**.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение **20-40 анализов** при расходе реагентов по 0,1-0,05 мл на одно определение.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Во вскрытом флаконе АПТВ-реагент должен находиться в течение рабочего дня при комнатной температуре, по окончании которого реагент следует хранить при температуре +2... +8 °С. Такое чередование температурного режима допускается до полного расходования объема АПТВ-реагента на протяжении 2 недель.

После вскрытия раствор кальция хлорида в герметично закрытом флаконе следует хранить при температуре +2... +8 °С. Необходимый для проведения исследований (на протяжении рабочего дня) объем раствора кальция хлорида необходимо отлить в отдельную пробирку или флакон, где этот раствор может храниться при температуре +37 °С в течение 4 ч или при комнатной температуре не более 1 дня. Не допускается сливание остатков этого раствора после прогревания во вскрытый герметично закрытый флакон с хранящимся при температуре +2... +8 °С раствором кальция хлорида. Во вскрытом флаконе раствор кальция хлорида может храниться до полного расходования на протяжении 2 недель.

Разведенную контрольную плазму можно использовать в течение 3 ч в условиях хранения при комнатной температуре (+18... +25 °С), возможно замораживание при температуре -16... -20 °С на срок до двух недель.

Разведенную дефицитную по фактору IX плазму можно использовать в течение 3 ч в условиях хранения при комнатной температуре (+18... +25 °С), возможно замораживание при температуре -16... -20 °С на срок до двух недель.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ДЕФИЦИТНАЯ ПО ФАКТОРУ IX ПЛАЗМА

## Инструкция

270

Каталожный  
номер набораТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Реагент является лиофилизированной плазмой крови с уровнем фактора IX не более 1 %. Плазма стабилизирована цитратом натрия, не содержит ингибитор фактора IX, обследована на инфицированность вирусами гепатита В и ВИЧ.

Дефицитную по фактору IX плазму применяют для определения уровня этого фактора у больных при диагностике гемофилии В и контроля за эффективностью заместительной терапии.

### Фасовка:

**Дефицитная по фактору IX плазма**  
(лиофильно высушенная), на 1 мл – во флаконе.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Дефицитная по фактору IX плазма используется только для применения *in vitro*.

При работе с дефицитной по фактору IX плазмой следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, водяная баня на +37 °С);
- перчатки резиновые хирургические;
- пипетка вместимостью 1,0 мл;
- дистиллированная вода.

### Рекомендации по использованию

Во флакон с дефицитной по фактору IX плазмой внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать 25-30 мин при комнатной температуре.

Определение уровня фактора IX в исследуемой плазме проводят в соответствии с унифицированной методикой одностадийного количественного определения фактора VIII и IX (*Гематология и трансфузиология. – 1991. – № 4. – С. 33*) См. также Инструкцию к набору реагентов «Тех-Фактор IX-тест» ООО фирмы «Технология-Стандарт» (кат. № 679).

### Условия хранения и применения

Хранение дефицитной по фактору IX плазмы должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**15 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Дефицитную по фактору IX плазму после разведения можно хранить при температуре +18... +25 °С не более 3 ч, не замораживать.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# АРАХИДОНОВАЯ КИСЛОТА

## Инструкция по применению реагента для исследования агрегации тромбоцитов

### Назначение

Реагент применяется в качестве индуктора агрегации тромбоцитов при записи агрегатограмм. Используется для диагностики врожденных и приобретенных нарушений тромбоцитарного гемостаза, а также контроля за антиагрегантной терапией и др.

Реагент предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика реагента

**Принцип метода.** Заключается в определении изменения оптических свойств богатой тромбоцитами плазмы в результате агрегации тромбоцитов под действием арахидоновой кислоты (принцип Борна). Для исследования агрегации, индуцируемой арахидоновой кислотой, используется агрегометр. После добавления арахидоновой кислоты в богатую тромбоцитами плазму начинается изменение её оптических свойств, что и регистрирует агрегометр.

### Фасовка:

**Арахидоновая кислота** (лиофильно высушенная) – во флаконе.

### Аналитические характеристики реагента

Допустимое отклонение степени агрегации тромбоцитов с арахидоновой кислотой от аттестованного значения не превышает 10 %.

Коэффициент вариации результатов определения степени агрегации тромбоцитов на арахидоновую кислоту не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения степени агрегации тромбоцитов на арахидоновую кислоту в одной пробе плазмы крови разными реагентами одной серии не превышает 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к реагенту.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения реагента – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

743

Каталожный  
номер реагента

Только для  
*in vitro*  
диагностики

Реагент используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен и проверен на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с реагентом следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с реагентом следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- Агрегометр;
- пипетки вместимостью 0,05-0,2 и 0,2-1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- центрифуга лабораторная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Первую пробирку с кровью центрифугируют при 1000 об/мин (150-200 г) в течение 5 мин. В результате получают богатую тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования. Вторую пробирку центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 г) в течение 15 мин.

Таким образом получают бедную тромбоцитами плазму, которая будет необходима для калировки агрегометра.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование — сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, признаки гемолиза и полученной более 2 ч назад.

## Приготовление реагента и проведение анализа

### 1. Подготовка реагента к работе

Во флакон с арахидоновой кислотой внести указанный в паспорте к реагенту объем дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) путем встряхивания флакона при закрытой пробке в течение 3-5 мин. В результате получают раствор арахидоновой кислоты (11 ммоль/л).

### 2. Проведение анализа

Запись агрегатограмм проводят в соответствии с инструкцией к агрегометру. При записи агрегации на разных моделях агрегометров следует руководствоваться соотношением смешиваемых реагентов, указанных в таблице.

*Таблица.*

#### Адаптация для разных агрегометров

Агрегометр (производитель)	Богатая тромбоцитами плазма, мкл	Раствор арахидоновой кислоты, мкл
220LA, 230LA и аналогичные (НПФ «БИОЛА», Россия)	400	50
490-2D и аналогичные («Chrono-log Corporation», США)	400	50
AggRAM («Helena Biosciences», Великобритания)	225	25
AP-2110 (ЗАО «СО-ЛАР», Беларусь)	400	50
Другие	400	50

Во всех случаях параллельно с опытной пробой рекомендуется определять агрегацию тромбоцитов в свежеполученной контрольной нормальной богатой тромбоцитами плазме.

### 3. Чтение результатов

Необходимо отработать нормативные (контрольные) параметры агрегатограммы на образцах богатой тромбоцитами плазмы здоровых людей. Для агрегометров разных конструкций нормативы могут отличаться между собой.

Низкие значения агрегации тромбоцитов с арахидоновой кислотой часто наблюдаются на фоне применения нестероидных противовоспалительных препаратов.

## Условия хранения и применения

Один флакон арахидоновой кислоты рассчитан на проведение **20-40 записей** агрегации тромбоцитов (агрегатограмм).

Хранение реагента должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**12 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Раствор арахидоновой кислоты нужно хранить в герметично закрытом флаконе и защищенном от света месте при температуре +2... +8 °С не более 24 часов в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. При комнатной температуре (+18... +25 °С) — использовать в течение 8 часов.

Допускается однократное замораживание раствора при -2... -8 °С и хранение в течение 7 дней в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Пул свежеполученной плазмы крови хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 3 ч.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагента. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагента могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества реагента «Арахидоновая кислота», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39.

E-mail: mail@tehnologia-standart.ru.  
http://www.tehnologia-standart.ru.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. — 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. — СПб.: ФормаТ, 2006. — 208 с.
3. Сайт компании www.tehnologia-standart.ru.

# АДФ

## Инструкция по применению набора реагентов для определения АДФ-агрегации тромбоцитов

030

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор применяется в качестве индуктора агрегации тромбоцитов при записи агрегатограмм. Используется для диагностики врожденных и приобретенных нарушений тромбоцитарного гемостаза, а также контроля за антиагрегантной терапией и др.

Набор предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении изменения оптических свойств богатой тромбоцитами плазмы в результате агрегации тромбоцитов под действием АДФ (принцип Борна). Для изучения агрегации, индуцируемой АДФ, используется агрегометр. После добавления АДФ в богатую тромбоцитами плазму начинается изменение её оптических свойств, что и регистрирует агрегометр.

### Состав набора:

1. **АДФ** (лиофильно высушенный), 2 мг – 2 фл;
2. **Растворитель для АДФ**, 2,5 мл – 2 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения степени агрегации тромбоцитов на АДФ не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения степени агрегации тромбоцитов на АДФ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как

потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Агрегометр;
- пипетки вместимостью 0,05-0,2 и 0,2-1,0 мл;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- центрифуга лабораторная;
- пробирки или флаконы;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в две пластиковые пробирки, содержащие 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Первую пробирку с кровью центрифугируют при 1000 об/мин (150-200 г) в течение 5 мин. В результате получают богатую тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования. Вторую пробирку центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 г) в течение 15 мин.

Так получают бедную тромбоцитами плазму, которая будет необходима для калибровки агрегометра.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови с гемолизом, имеющей густки и полученной более 2 ч назад.

### Приготовление реагентов и проведение анализа

#### 1. Подготовка реагентов к работе

В один из флаконов с АДФ внести 2,0 мл растворителя для АДФ и развести

содержимое при комнатной температуре (+18...+25 °С) и легком покачивании в течение 2 мин. В результате получают маточный раствор АДФ (1 мг/мл), который хранят при температуре -16... -20 °С до 1 мес и размораживают по мере необходимости для приготовления рабочего раствора АДФ. Допускается многократное чередование замораживания и размораживания.

Второй флакон с АДФ развести после полного использования АДФ в первом флаконе.

Для приготовления рабочего раствора АДФ из маточного необходимо использовать таблицу 1.

Таблица 1.

### Схема приготовления рабочих растворов АДФ

№ раствора с АДФ	Соотношение смешиваемых физиологического (0,9%) раствора хлорида натрия и раствора АДФ	Разведение маточного раствора	Конечная концентрация АДФ при агрегометрии (0,4 мл плазмы + 0,05 мл раствора АДФ)
1	0,9 мл + 0,1 мл маточного раствора	1:10	10,0 мкг/мл = $2 \times 10^{-5} \text{M}$
2	0,5 мл + 0,5 мл из раствора 1	1:20	5,0 мкг/мл = $1 \times 10^{-5} \text{M}$
3	0,5 мл + 0,5 мл из раствора 2	1:40	2,5 мкг/мл = $0,5 \times 10^{-5} \text{M}$
4	0,5 мл + 0,5 мл из раствора 3	1:80	1,25 мкг/мл = $0,25 \times 10^{-5} \text{M}$

## 2. Проведение анализа

Запись агрегатограмм проводят в соответствии с инструкцией к агрегометру. При записи агрегации следует подчеркнуть целесообразность использования смешиваемых объемов, указанных в таблице 2.

Во всех случаях параллельно с опытной пробой рекомендуется определять агрегацию тромбоцитов в свежеполученной контрольной нормальной богатой тромбоцитами плазме.

## 3. Чтение результатов

Необходимо отработать нормативные (контрольные) параметры агрегатограммы на образцах богатой тромбоцитами плазмы здоровых людей. Для агрегометров разных конструкций нормативы могут отличаться между собой.

Таблица 2.

## Адаптация для разных агрегометров

Агрегометр (производитель)	Богатая тромбоцитами плазма, мкл	Раствор АДФ, мкл
220LA, 230LA и аналогичные (НПФ «БИОЛА», Россия)	400	50
490-2D и аналогичные («Chrono-log Corporation», США)	400	50
AggRAM («Helena Biosciences», Великобритания)	225	25
AP-2110 (ЗАО «СО-ЛАР», Беларусь)	400	50
Другие	400	50

Низкие значения агрегации тромбоцитов с АДФ встречаются при врожденной дисфункции тромбоцитарного гемостаза. Кроме того, снижение агрегации на АДФ нередко наблюдается на фоне применения антиагрегантов.

## Условия хранения и применения

Набор реагентов, состоящий из АДФ и растворителя для АДФ, рассчитан на проведение до **1000 записей** агрегации тромбоцитов (агрегатограмм).

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Маточный раствор АДФ можно хранить при температуре -16... -20 °С до 1 мес (допускается многократное чередование процедуры «замораживание-размораживание»).

Рабочие растворы АДФ можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2 дней или не более 1 дня – при температуре +18... +25 °С, не замораживать.

## Литература

- Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
- Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
- Сайт компании: [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# АДРЕНАЛИН

## Инструкция по применению набора реагентов для определения адреналин-агрегации тромбоцитов

031

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Набор применяется в качестве индуктора агрегации тромбоцитов при записи агрегатограмм. Используется для диагностики врожденных и приобретенных нарушений тромбоцитарного гемостаза, а также контроля за антиагрегантной терапией и др.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования.

### Характеристики набора

**Принцип метода.** Заключается в определении изменения оптических свойств богатой тромбоцитами плазмы в результате агрегации тромбоцитов под действием адреналина (принцип Борна). Для изучения агрегации, индуцируемой адреналином (эпинефрином), используется агрегометр. После добавления адреналина в богатую тромбоцитами плазму начинается изменение её оптических свойств, что и регистрирует агрегометр.

### Состав набора:

1. **Адреналин** (эпинефрин сухой) – 1 фл.
2. **Растворитель для адреналина**, 8,5 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения степени агрегации тромбоцитов на адреналин не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения степени агрегации тромбоцитов на адреналин в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные

длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Агрегометр;
- пипетки вместимостью 0,05-0,2 и 0,2-1,0 мл;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- центрифуга лабораторная;
- пробирки или флаконы из тёмного стекла;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в две пластиковые пробирки, содержащие 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Первую пробирку с кровью центрифугируют при 1000 об/мин (150-200 г) в течение 5 мин.

В результате получают богатую тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования. Вторую пробирку центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. Так получают бедную тромбоцитами плазму, которая будет необходима для калибровки агрегометра.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови с гемолизом, имеющей сгустки и полученной более 2 ч назад.

### Приготовление реагентов и проведение анализа

#### 1. Подготовка реагентов к работе

Во флакон с адреналином внести **8,0 мл** растворителя для адреналина и развести



содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) путем встряхивания и периодического переворачивания флакона при закрытой пробке в течение 10 мин. В результате получают маточный раствор адреналина (500 мкг/мл).

Для приготовления рабочего раствора адреналина из маточного пользуются таблицей 1.

Таблица 1.

### Схема приготовления рабочих растворов адреналина

№ раствора с адреналином	Соотношение смешиваемых физиологического (0,9%) раствора хлорида натрия и раствора адреналина	Разведение маточного раствора	Конечная концентрация при агрегометрии (0,4 мл плазмы + 0,05 мл раствора адреналина)
1	4,9 мл + 0,1 мл маточн. раствора	1:50	10 мкг/мл
2	1,0 мл + 1,0 мл из раствора №1	1:100	5 мкг/мл
3	1,0 мл + 1,0 мл из раствора №2	1:200	2,5 мкг/мл

Рабочие растворы адреналина желателно готовить во флаконах из темного стекла.

### 1. Проведение анализа

Запись агрегатограмм проводят в соответствии с инструкцией к агрегометру. При записи агрегации следует подчеркнуть целесообразность использования смешиваемых объёмов, указанных в таблице 2.

Во всех случаях параллельно с опытной пробой рекомендуется определять агрегацию тромбоцитов в свежеполученной контрольной нормальной богатой тромбоцитами плазме.

### 3. Чтение результатов

Необходимо отработать нормативные (контрольные) параметры агрегатограммы на образцах богатой тромбоцитами плазмы здоровых людей. Для агрегометров разных конструкций нормативы могут отличаться между собой.

Таблица 2.

### Адаптация для разных агрегометров

Агрегометр (производитель)	Богатая тромбоцитами плазма, мкл	Раствор адреналина, мкл
220LA, 230LA и аналогичные (НПФ «БИОЛА», Россия)	400	50
490-2D и аналогичные («Chrono-log Corporation», США)	400	50
AggRAM («Helena Biosciences», Великобритания)	225	25
AP-2110 (ЗАО «СО-ЛАР», Беларусь)	400	50
Другие	400	50

Низкие значения агрегации тромбоцитов с адреналином встречаются при врождённой дисфункции тромбоцитарного гемостаза. Кроме того, снижение агрегации на адреналин нередко наблюдается на фоне применения антиагрегантов и нестероидных противовоспалительных препаратов.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение до **1000 записей** агрегации тромбоцитов (агрегатограмм).

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Маточный раствор адреналина можно хранить во флаконе при температуре +2... +8 °С не более 1 мес, не замораживать.

Рабочие растворы адреналина можно хранить в защищенном от света месте при комнатной температуре (+18... +25 °С) в течение 4-х часов или не более 1 дня – при температуре +2... +8 °С, не замораживать.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании: [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).



# КОЛЛАГЕН

095

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению набора реагентов для определения коллаген-агрегации тромбоцитов

Каталожный  
номер набора

### Назначение

Набор применяется в качестве индуктора агрегации тромбоцитов при записи агрегатограмм. Используется для диагностики врожденных нарушений тромбоцитарного гемостаза.

Реагент предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении изменения оптических свойств богатой тромбоцитами плазмы в результате агрегации тромбоцитов под действием коллагена (принцип Борна). Для изучения агрегации, индуцируемой коллагеном, используется агрегометр. После добавления коллагена в богатую тромбоцитами плазму начинается изменение её оптических свойств, что и регистрирует агрегометр.

### Состав набора:

1. **Коллаген** (лиофильно высушенный) – 1 фл.
2. **Растворитель для коллагена**, 6,5 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения степени агрегации тромбоцитов на коллаген не превышает 10 %. Допустимый разброс результатов определения степени агрегации тромбоцитов на коллаген в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые

перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Агрегометр;
- пипетки вместимостью 0,05-0,2 и 0,2-1,0 мл;
- центрифуга лабораторная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в две пластиковые пробирки, содержащие 3,2-3,8 % раствора натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Первую пробирку с кровью центрифугируют при 1000 об/мин (150-200 г) в течение 5 мин. В результате получают богатую тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования. Вторую пробирку центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 г) в течение 15 мин.

Так получают бедную тромбоцитами плазму, которая будет необходима для калибровки агрегометра.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови с гемолизом, имеющей сгустки и полученной более 2 ч назад.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

Во флакон с коллагеном внести **6,0 мл** растворителя для коллагена и развести содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 5 мин. В результате получают раствор коллагена (20 мг/мл).

### 2. Проведение анализа

Запись агрегатограмм проводят в соответствии с инструкцией к агрегометру. При записи агрегации следует подчеркнуть целесообразность использования смешиваемых объемов, указанных в таблице.

*Таблица.*

#### Адаптация для разных агрегометров

Агрегометр (производитель)	Богатая тромбоцитами плазма, мкл	Раствор коллагена, мкл
220LA, 230LA и аналогичные (НПФ «БИОЛА», Россия)	400	50
490-2D и аналогичные («Chrono-log Corporation», США)	400	50
AggRAM («Helena Biosciences», Великобритания)	225	25
AP-2110 (ЗАО «СО-ЛАР», Беларусь)	400	50
Другие	400	50

Во всех случаях параллельно с опытной пробой рекомендуется определять агрегацию тромбоцитов в свежеполученной контрольной нормальной богатой тромбоцитами плазме.

### 3. Чтение результатов

Необходимо отработать нормативные (контрольные) параметры агрегатограммы на образцах богатой тромбоцитами плазмы здоровых людей. Для агрегометров разных конструкций нормативы могут отличаться между собой.

Низкие значения агрегации тромбоцитов с коллагеном встречаются при врожденной дисфункции тромбоцитарного гемостаза.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Раствор коллагена можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 3 недель. Для увеличения срока использования реагента с 3 до 6 недель рекомендуется разделить его на 2 равные части, одну из которых заморозить и хранить при температуре -16... -20 °С.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2001. – 296 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании: [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

## Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение не менее **120 записей** агрегации тромбоцитов (агрегатограмм).

# РИСТОМИЦИН

197

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению набора реагентов для определения ристомиици-агрегации тромбоцитов

### Назначение

Набор применяется в качестве индуктора агрегации тромбоцитов при записи агрегатограмм. Используется для диагностики нарушений тромбоцитарного гемостаза, обусловленных дефицитом фактора Виллебранда или уменьшением числа его рецепторов на цитоплазматической мембране тромбоцитов (болезни Виллебранда и Бернара-Сулье). Реагент предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении изменения оптических свойств богатой тромбоцитами плазмы в результате агрегации тромбоцитов под действием ристомиицина (принцип Борна). Для изучения агрегации, индуцируемой ристомиицином (ристоцетином), используется агрегометр. После добавления ристомиицина в богатую тромбоцитами плазму начинается изменение её оптических свойств, что и регистрирует агрегометр.

### Состав набора:

1. Ристомиицин (лиофильно высушенный), 7,5 мг – 1 фл.
2. Растворитель для ристомиицина, 1 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения степени агрегации тромбоцитов на ристомиицин не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения степени агрегации тромбоцитов на ристомиицин в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Каталожный  
номер набора

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Агрегометр;
- пипетки вместимостью 0,05-0,2 и 0,2-1,0 мл;
- центрифуга лабораторная;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в две пластиковые пробирки, содержащие 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Первую пробирку с кровью центрифугируют при 1000 об/мин (150-200 г) в течение 5 мин. В результате получают богатую тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования. Вторую пробирку центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 г) в течение 15 мин. Так получают бедную тромбоцитами плазму, которая будет необходима для калибровки агрегометра.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же

после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови с гемолизом, имеющей сгустки и полученной более 2 ч назад.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

Во флакон с ристомицином внести **0,5 мл** реагента для ристомидина и развести содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин. В результате получают раствор ристомидина.

### 2. Проведение анализа

Запись агрегатограмм проводят в соответствии с инструкцией к агрегометру. При записи агрегации следует подчеркнуть целесообразность использования смешиваемых объемов, указанных в таблице.

Таблица.

### Адаптация для разных агрегометров

Агрегометр (производитель)	Богатая тромбоцитами плазма, мкл	Раствор АДФ, мкл
220LA, 230LA и аналогичные (НПФ «БИОЛА», Россия)	400	50
490-2D и аналогичные («Chrono-log Corporation», США)	400	50
AggRAM («Helena Biosciences», Великобритания)	225	25
AP-2110 (ЗАО «СО-ЛАР», Беларусь)	400	50
Другие	400	50

Во всех случаях параллельно с опытной пробой рекомендуется определять агрегацию тромбоцитов в свежеполученной контрольной нормальной богатой тромбоцитами плазме.

### 3. Чтение результатов

Необходимо отработать нормативные (контрольные) параметры агрегатограммы на образцах богатой тромбоцитами плазмы здоровых людей. Для агрегометров разных конструкций нормативы могут отличаться между собой.

Низкие значения агрегации тромбоцитов с ристомицином встречаются при некоторых субтипах болезни Виллебранда.

### Условия хранения и применения

Набор реагентов рассчитан на проведение до **10 записей** агрегации тромбоцитов (агрегатограмм).

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °C в течение 30 сут.

Раствор ристомидина можно хранить при комнатной температуре не более 1 дня и не более 2-х суток при температуре +2... +8 °C.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинко-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. 208 с.
3. Сайт компании: [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# АГРЕСКРИН-ТЕСТ

010

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению набора реагентов для экспресс-оценки тромбоцитарного гемостаза

Каталожный  
номер набора

### Назначение

Набор предназначен для экспресс-оценки тромбоцитарного гемостаза. Использование набора позволяет визуально определить, имеются ли грубые нарушения количества тромбоцитов и их агрегации.

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в определении времени агрегации тромбоцитов при смешивании на стекле богатой тромбоцитами плазмы с индуктором агрегации. Время реакции зависит от их способности к агрегации и количества тромбоцитов в плазме (необходим подсчет).

### Состав набора:

1. Универсальный индуктор агрегации (УИА) – расфасованный в 96 лунках планшета – 1 шт.
2. Палочка для перемешивания – 1 шт.
3. Копьё-скарификатор – 1 шт.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения времени агрегации не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения времени агрегации в одной пробе богатой тромбоцитами плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Пипетки вместимостью 0,05-0,2 и 0,2-1,0 мл;
- центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- осветитель для микроскопа;
- пробирки стеклянные;
- стекла предметные;
- вода дистиллированная;
- контрольная нормальная богатая тромбоцитами цитратная плазма крови;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1.

Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %).

Пробирку с кровью центрифугируют при 1000 об/мин (150-200 g) в течение 5 мин. В результате получают богатую тромбоцитами плазму.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови,

а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови с гемолизом, имеющей сгустки и полученной более 2 ч назад.

## Приготовление реагентов и проведение анализа

### 1. Подготовка реагентов к работе

В день исследования после надреза и удаления с помощью скарификатора участка пленки над одной из лунок планшета, в лунку внести **0,25 мл** дистиллированной воды, имеющей комнатную температуру (+18...+25 °С). Стеклой палочкой размешать содержимое лунки до растворения сухого вещества. В результате получают маточный раствор реагента.

Для приготовления рабочего раствора УИА в пробирке смешать **0,2 мл** маточного раствора с указанным в *Паспорте к набору* объемом дистиллированной воды.

### 2. Проведение анализа

На обезжиренное сухое предметное стекло нанести 0,1 мл исследуемой плазмы и 0,1 мл рабочего раствора УИА. Стеклой палочкой смешать капли и немедленно включить секундомер. При покачивании стекла в отраженном свете (рекомендуется использование осветлителя для микроскопа) визуально учесть время в секундах от момента смешивания реагентов до агрегации и просветления плазмы.

Параллельно провести определение с контрольной нормальной богатой тромбоцитами плазмой (однократно, т.к. активность УИА во всех лунках одинакова).

### Чтение результатов

Результат учитывают в секундах. В норме время агрегации с УИА составляет **14-18 с**.

Удлинение времени агрегации и слабая выраженность процесса (мелкие пылевидные агрегаты) при нормальном количестве тромбоцитов свидетельствует о дисфункции тромбоцитов (табл. 1), а более быстрое образование агрегатов при нормальном количестве тромбоцитов – о гиперагрегации кровяных пластинок (табл. 1).

Таблица 1

### Оценка агрегации тромбоцитов при разном числе тромбоцитов

Заключение	Число тромбоцитов, 10 <sup>9</sup> /л	Время агрегации с УИА, с			
		Менее 14	14-18	19-26	Более 26
1. Норма	170-400		•		
2. Количественные нарушения:					
а) тромбоцитоз	более 400	•			
б) тромбоцитопения:					
- умеренная	50-170			•	
- глубокая	менее 50				•
3. Качественные нарушения:					
а) гипер-агрегация тромбоцитов	170-400	•			
б) тромбоцитопатия	170-400			•	•

Для количественного выражения результатов необходимо воспользоваться таблицей 2:

Таблица 2

### Определение степени агрегации на стекле с УИА (в %)

Время агрегации у больного, с	Время агрегации в контрольной нормальной плазме, с				
	14	15	16	17	18
9	136	140	144	147	150
10	129	133	137	141	144
11	121	127	131	135	139
12	114	120	125	129	133
13	107	113	119	124	128
14	100	107	112	118	122
15	93	100	106	112	116
16	86	93	100	106	111
17	79	87	94	100	106
18	71	80	88	94	100
19	64	73	81	88	94
20	57	67	75	82	89
21	50	60	69	76	84
22	43	53	63	71	78
23	36	47	56	65	72
24	29	40	50	59	67
25	21	33	44	53	61
26	14	27	38	47	56
27	7	20	32	41	50
28		13	25	35	44
29			19	29	39
30				24	33
31					28

Нормальные значения степени агрегации: 80-110%.

### Условия хранения и применения

Набор рассчитан на проведение не менее **500 определений**. Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Рабочий раствор УИА можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 2 ч или не более 12 ч при температуре +2... +8 °С, не замораживать.

### Литература

1. Баркаган Л.З., Архипов Б.Ф., Кучерский В.М. Гемолизат-агрегационный тест //Лаб. дело. – 1986. – № 3. – С. 138.
2. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

# ТЕХНОКЛОТ Н

## Инструкция по применению контрольной плазмы с нормальным диапазоном значений

774

Каталожный  
номер реагентаТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Контрольную плазму с нормальным диапазоном значений «Техноклот Н» применяют для проведения контроля качества реагентов (Quality Control), использующихся при исследовании системы гемостаза. Реагент аттестован по 7 параметрам в нормальном диапазоне:

- АПТВ/АЧТВ;
- протромбиновое время;
- международное нормализованное отношение (МНО);
- показатель по Квику;
- тромбиновое время;
- анцистроновое время;
- фибриноген (методом Клаусса).

Реагент предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика реагента

**Принцип метода.** Заключается в осуществлении внутрилабораторного контроля качества реагентов. Реагент является лиофилизированной смесью бедной тромбоцитами плазмы крови здоровых людей. Контрольная плазма стабилизирована цитратом натрия. Диапазоны контроли-руемых параметров указаны в паспорте к реагенту.

### Фасовка:

**Техноклот Н** (лиофильно высушенная котрольная плазма с нормальным диапазоном значений), на 1 мл – во флаконе.

### Аналитические характеристики реагента

Коэффициент вариации результатов определения контролируемых показателей не превышает 10 %.

Допустимое отклонение контролируемых показателей от аттестованного значения не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения контролируемых показателей в разных

реагентах одной серии не превышает 10 %. Фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к реагенту.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения реагента – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Реагент используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

Реагент проверен на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с реагентом следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с реагентом следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- В соответствии с инструкцией к применяемому набору реагентов использовать автоматический или полуавтоматический коагулометр;
- дозатор на 1,0 мл;
- дистиллированная вода;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- прочее оборудование и реагенты в соответствии с инструкциями к применяемым наборам реагентов.



## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагента к работе**

Во флакон с контрольной плазмой «Техноклот Н» внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать не менее 15 мин при комнатной температуре.

### **2. Проведение анализа**

Следует использовать инструкцию по применению набора реагентов для определения контролируемого параметра.

### **3. Чтение результатов**

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества принято удерживать контролируемый показатель внутри диапазона двух среднеквадратичных отклонений. Диапазоны контролируемых параметров вычислены с учетом стандартного отклонения и указаны в паспорте к реагенту.

## **Условия хранения и применения**

Один флакон с контрольной плазмой рассчитан на 10-20 определений при расходе раствора реагента по 0,1-0,05 мл на 1 определение.

Хранение контрольной плазмы «Техноклот Н» должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (18 мес) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Контрольную плазму после разведения можно хранить при температуре +18... +25 °С не более 4 ч.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагента. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения

анализа и приготовления реагента могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества реагента «Техноклот Н», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: [mail@tehnologia-standart.ru](mailto:mail@tehnologia-standart.ru). <http://www.tehnologia-standart.ru>.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХНОКЛОТ П

## Инструкция по применению контрольной плазмы с патологическим диапазоном значений

775

Каталожный  
номер реагентаТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Контрольную плазму с патологическим диапазоном значений «Техноклот П» применяют для проведения контроля качества реагентов (Quality Control), использующихся при исследовании системы гемостаза. Реагент аттестован по 7 параметрам в патологическом диапазоне:

- АПТВ/АЧТВ;
- протромбиновое время;
- международное нормализованное отношение (МНО);
- показатель по Квику;
- тромбиновое время;
- анцистроновое время;
- фибриноген (методом Клаусса).

Реагент предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика реагента

**Принцип метода.** Заключается в осуществлении внутрилабораторного контроля качества реагентов. Реагент является лиофилизированной смесью бедной тромбоцитами плазмы крови здоровых людей. Контрольная плазма стабилизирована цитратом натрия и специально подготовлена для получения патологического диапазона значений. Диапазоны контролируемых параметров указаны в паспорте к реагенту.

### Фасовка:

**Техноклот П** (лиофильно высушенная контрольная плазма с патологическим диапазоном значений), на 1 мл – во флаконе.

### Аналитические

#### характеристики реагента

Коэффициент вариации результатов определения контролируемых показателей не превышает 10 %.

Допустимое отклонение контролируемых показателей от аттестованного значения

не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения контролируемых показателей в разных реагентах одной серии не превышает 10 %. Фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к реагенту.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения реагента – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Реагент используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

Реагент проверен на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с реагентом следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с реагентом следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- В соответствии с инструкцией к применяемому набору реагентов использовать автоматический или полуавтоматический коагулометр;
- дозатор на 1,0 мл;
- дистиллированная вода;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;

- прочее оборудование и реагенты в соответствии с инструкциями к применяемому набору реагентов.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагента к работе**

Во флакон с контрольной плазмой «Техноклот П» внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать не менее 15 мин при комнатной температуре.

### **2. Проведение анализа**

Следует использовать инструкцию по применению набора реагентов для определения контролируемого параметра.

### **3. Чтение результатов**

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества принято удерживать контролируемый показатель внутри диапазона двух среднеквадратичных отклонений. Диапазоны контролируемых параметров вычислены с учетом стандартного отклонения и указаны в паспорте к реагенту.

## **Условия хранения и применения реагента**

Один флакон с контрольной плазмой рассчитан на 10-20 определений при расходе раствора реагента по 0,1-0,05 мл на 1 определение.

Хранение контрольной плазмы «Техноклот П» должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (18 мес) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Контрольную плазму после разведения можно хранить при температуре +18... +25 °С не более 4 ч.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации

как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагента. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагента могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества реагента «Техноклот П», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: [mail@tehnologia-standart.ru](mailto:mail@tehnologia-standart.ru). <http://www.tehnologia-standart.ru>.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинко-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХ-КОНТРОЛЬ Н

## Инструкция по применению контрольной плазмы с нормальным диапазоном значений

776

Каталожный  
номер реагентаТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Контрольная плазма с нормальным диапазоном значений (**Тех-контроль Н**) применяется для проведения контроля качества реагентов (Quality Control), используемых при исследовании системы гемостаза. Реагент аттестован по 7 параметрам в нормальном диапазоне:

- фибриноген (модифицированным методом Клаусса);
- антитромбин;
- пламиноген;
- протеин С;
- коагуляционный фактор VIII;
- коагуляционный фактор IX;
- коагуляционный фактор XIII.

Реагент предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика реагента

**Принцип метода.** Заключается в осуществлении внутрилабораторного контроля качества реагентов. Реагент является лиофилизированной смесью бедной тромбоцитами плазмы крови здоровых людей. Контрольная плазма стабилизирована цитратом натрия. Диапазоны контролируемых параметров указаны в паспорте к реагенту.

### Фасовка:

**Тех-контроль Н** (лиофильно высушенная контрольная плазма с нормальным диапазоном значений), на 1 мл – во флаконе.

### Аналитические характеристики реагента

Коэффициент вариации результатов определения контролируемых показателей не превышает 10 %.

Допустимое отклонение контролируемых показателей от аттестованного значения не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения контролируемых показателей в разных

реагентах одной серии не превышает 10 %.

Фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к реагенту.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения реагента – класс 2a (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4n от 06.06.2012 г.).

Реагент используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

Реагент проверен на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с реагентом следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с реагентом следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- В соответствии с инструкцией к применяемому набору реагентов использовать автоматический или полуавтоматический коагулометр, фотометр;
- дозатор на 1,0 мл;
- дистиллированная вода;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- прочее оборудование и реагенты в соответствии с инструкциями к применяемым наборам реагентов.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагента к работе**

Во флакон с контрольной плазмой «Тех-контроль Н» внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать не менее 15 мин при комнатной температуре.

### **2. Проведение анализа**

Следует использовать инструкцию по применению набора реагентов для определения контролируемого параметра.

### **3. Чтение результатов**

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества принято удерживать контролируемый показатель внутри диапазона двух среднеквадратичных отклонений. Диапазоны контролируемых параметров вычислены с учетом стандартного отклонения и указаны в паспорте к реагенту.

## **Условия хранения и применения**

Один флакон с контрольной плазмой рассчитан на 10-20 определений при расходе раствора реагента по 0,1-0,05 мл на 1 определение.

Хранение контрольной плазмы «Тех-контроль Н» должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Контрольную плазму после разведения можно хранить при температуре +18... +25 °С не более 4 ч.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагента. Любые отклонения от рекомендованных процедур в ходе проведения анализа и приготовления реагента могут

привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества реагента «Тех-контроль Н», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХ-КОНТРОЛЬ П

## Инструкция по применению контрольной плазмы с патологическим диапазоном значений



Каталожный  
номер реагента

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Контрольная плазма с патологическим диапазоном значений (**Тех-контроль П**) применяется для проведения контроля качества реагентов (Quality Control), используемых при исследовании системы гемостаза. Реагент аттестован по 7 параметрам в патологическом диапазоне:

- фибриноген (модифицированным методом Клаусса);
- антитромбин;
- плазминоген;
- протеин С;
- коагуляционный фактор VIII;
- коагуляционный фактор IX;
- коагуляционный фактор XIII.

Реагент предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика реагента

**Принцип метода.** Заключается в осуществлении внутрилабораторного контроля качества реагентов. Реагент является лиофилизированной смесью бедной тромбоцитами плазмы крови здоровых людей. Контрольная плазма стабилизирована цитратом натрия и специально подготовлена для получения патологического диапазона значений. Диапазоны контролируемых параметров указаны в паспорте к реагенту.

### Фасовка:

**Тех-контроль П** (лиофильно высушенная контрольная плазма с патологическим диапазоном значений), на 1 мл – во флаконе.

### Аналитические характеристики реагента

Коэффициент вариации результатов определения контролируемых показателей не превышает 10 %.

Допустимое отклонение контролируемых показателей от аттестованного значения не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения контролируемых показателей в разных реагентах одной серии не превышает 10 %.

Фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к реагенту.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения реагента – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Реагент используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

Реагент проверен на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с реагентом следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с реагентом следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- В соответствии с инструкцией к применяемому набору реагентов использовать автоматический или полуавтоматический коагулометр, фотометр;
- дозатор на 1,0 мл;
- дистиллированная вода;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;

- прочее оборудование и реагенты в соответствии с инструкциями к применяемому набору реагентов.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагента к работе**

Во флакон с контрольной плазмой «Тех-контроль П» внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать не менее 15 мин при комнатной температуре.

### **2. Проведение анализа**

Следует использовать инструкцию по применению набора реагентов для определения контролируемого параметра.

### **3. Чтение результатов**

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества принято удерживать контролируемый показатель внутри диапазона двух среднеквадратичных отклонений. Диапазоны контролируемых параметров вычислены с учетом стандартного отклонения и указаны в паспорте к реагенту.

## **Условия хранения и применения**

Один флакон с контрольной плазмой рассчитан на 10-20 определений при расходе раствора реагента по 0,1-0,05 мл на 1 определение.

Хранение контрольной плазмы «Тех-контроль П» должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка при температуре до +25 °C в течение 30 сут транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Контрольную плазму после разведения можно хранить при температуре +18... +25 °C не более 4 ч.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагента. Любые отклонения от рекомендованных процедур в ходе проведения анализа и приготовления реагента могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества реагента «Тех-контроль П», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# МУЛЬТИТЕХ-КАЛИБРАТОР

## Инструкция по применению калибровочной плазмы



Каталожный  
номер реагента

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Калибровочную плазму **Мультитех-калибратор** применяют для получения калибровочных значений и построения калибровочных кривых на автоматических и полуавтоматических коагулометрах, а также фотометрах в методах для исследования системы гемостаза. Использование реагента освобождает в большинстве случаев от необходимости получения от здоровых людей свежей нормальной плазмы крови.

Мультитех-калибратор аттестован для построения калибровочных кривых и получения калибровочных значений по 12 параметрам при определении следующих показателей:

- АПТВ/АЧТВ;
- протромбиновое время;
- показатель по Квику;
- тромбиновое время;
- анцистроновое время;
- фибриноген;
- антитромбин;
- плазминоген;
- протеин С;
- коагуляционный фактор VIII;
- коагуляционный фактор IX;
- коагуляционный фактор XIII.

Реагент предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика реагента

**Принцип метода.** Заключается в использовании калибровочных значений и калибровочных кривых при исследовании параметров системы гемостаза. Реагент является лиофилизированной смесью бедной тромбоцитами плазмы крови здоровых людей. Мультитех-калибратор стабилизирован цитратом натрия.

### Фасовка:

**Мультитех-калибратор** (лиофильно высушенная калибровочная плазма), на 1 мл – во флаконе.

### Аналитические характеристики реагента

Коэффициент вариации результатов определения аттестованных показателей в калибровочной плазме не превышает 5 %.

Допустимое отклонение показателей в калибровочной плазме от аттестованного значения не превышает 5 %.

Допустимый разброс результатов определения аттестованных показателей в разных реагентах одной серии не превышает 5 %.

Фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к реагенту.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения реагента – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Реагент используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

Реагент проверен на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с реагентом следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с реагентом следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.



Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## **Оборудование, материалы, реагенты**

- В соответствии с инструкцией к применяемому набору реагентов использовать автоматический или полуавтоматический коагулометр, фотометр;
- дозатор на 1,0 мл;
- дистиллированная вода;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- прочее оборудование и реагенты в соответствии с инструкциями к применяемому набору реагентов.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагента к работе**

Во флакон с Мультитех-калибратором внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать не менее 15 мин при комнатной температуре.

### **2. Проведение анализа**

Следует использовать инструкцию по применению набора реагентов для определения калибруемого параметра.

Для каждой серии реагентов должен быть построен новый калибровочный график или получено свое калибровочное значение.

### **3. Чтение результатов**

Полученные результаты анализируют в соответствии с инструкциями к применяемым наборам реагентов.

### **4. Внутрिलाбораторный контроль качества**

Для проведения внутрिलाбораторного контроля качества рекомендуется использовать реагенты с нормальным диапазоном значений «Техноклот Н» (кат. № 774) и «Тех-контроль Н» (кат. № 776), а также реагенты с патологическим диапазоном значений «Техноклот П» (кат. № 775) и «Тех-контроль П» (кат. № 777).

## **Условия хранения и применения**

Один флакон с реагентом Мультитех-калибратор рассчитан на **10-20 определений** при расходе раствора реагента по 0,1-0,05 мл на 1 определение.

Хранение реагента Мультитех-калибратор должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Реагент Мультитех-калибратор после разведения можно хранить при температуре +18... +25 °С не более 3 ч.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагента. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагента могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества реагента Мультитех-калибратор, следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# ТЕХ-D-ДИМЕР КОНТРОЛЬ

## Инструкция по применению набора контрольных плазм для количественного определения D-димера в плазме крови

### Назначение

Набор контрольных плазм «Тех-D-димер контроль» применяют для проведения контроля качества (Quality Control) набора реагентов для количественного определения D-димера в плазме крови (Тех-D-димер-авто).

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Заключается в осуществлении внутрилабораторного контроля качества набора реагентов «Тех-D-димер-авто». Набор состоит из контрольных плазм, являющихся лиофилизированной смесью бедных тромбоцитами плазм крови здоровых людей. «Контрольная плазма (высокий уровень)» специально подготовлена для получения высокого диапазона значений. Диапазоны контролируемого уровня D-димера указаны в паспорте к набору.

### Состав набора:

1. **Контрольная плазма** (низкий уровень), на 1 мл – 1 фл.
2. **Контрольная плазма** (высокий уровень), на 1 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения уровня D-димера не превышает 10 %.

Допустимое отклонение уровня D-димера от аттестованного значения не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения уровня D-димера в разных реагентах одной серии не превышает 10 %.

Фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

Значения прослеживаются до соответствующей референтной методики измерения или до соответствующего референтного материала согласно ГОСТ ISO 17511-2011.

**813**

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2a (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Набор реагентов используется только для применения *in vitro*.

Реагенты, входящие в состав набора, в используемых концентрациях не токсичны.

Компоненты набора реагентов не содержат антитела к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр автоматический или иной прибор с оптическим методом регистрации и возможностью определения оптической плотности в диапазоне 500-900 нм.
- центрифуга лабораторная;
- дозатор на 0,05-1,0 мл;
- пробирки;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

## **Приготовление реагентов и проведение анализа**

### **1. Подготовка реагентов к работе**

Во флакон с контрольной плазмой «Контрольная плазма (низкий уровень)» внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать не менее 15 мин при комнатной температуре.

Во флакон с контрольной плазмой «Контрольная плазма (высокий уровень)» внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед исследованием выдержать не менее 15 мин при комнатной температуре.

### **2. Проведение анализа**

Исследование необходимо проводить в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов «Тех-Д-димер-авто» и руководством по использованию автоматического коагулометра или иного прибора с оптическим методом регистрации и возможностью определения оптической плотности в диапазоне 500-900 нм.

### **3. Чтение результатов**

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества принято удерживать контролируемый показатель внутри диапазона двух среднеквадратичных отклонений. Диапазоны контролируемых параметров вычислены с учетом стандартного отклонения и указаны в паспорте к набору.

## **Условия хранения и применения набора**

Один флакон контрольной плазмы набора «Тех-Д-димер контроль» рассчитан на проведение до 15 контрольных измерений при расходе раствора реагента по 55 мкл на 1 определение.

Хранение набора реагентов должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности (18 мес) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка при температуре до +25 °C в течение 30 сут транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Контрольные плазмы после разведения можно хранить при температуре +18... +25 °C не более 8 ч, при температуре +2... +8 °C – не более 5 сут, допускается однократное замораживание.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

## **Меры по безопасной утилизации медицинского изделия и отходов**

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию медицинского изделия следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Медицинское изделие, не подлежащее использованию, а также с истекшим сроком годности относится к медицинским отходам класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10), не содержащим потенциально опасные материалы и вещества (эпидемиологически безопасные отходы).

Все использованные одноразовые расходные материалы, образующиеся при работе с изделием, содержащие образцы плазмы крови пациентов, необходимо подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»), как потенциально инфицированные медицинские отходы класса Б (СанПиН 2.1.7.2790-10). Сбор, временное хранение и вывоз таких отходов следует выполнять в соответствии со схемой обращения с медицинскими отходами, принятой в организации, осуществляющей медицинскую деятельность.

Реагенты, входящие в состав набора, не являются горючими и взрывоопасными. Сильное нагревание вторичной упаковки (коробки и блистера) может приводить к их возгоранию.

## **Гарантийные обязательства**

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов «Тех-Д-димер контроль», следует

обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

### **Литература**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# БУФЕР ТРИС-НСИ

## Инструкция

027

Каталожный  
номер реагента

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

«Буфер трис-НСИ» предназначен для разведения тромбина в наборе реагентов «Тромбо-тест».

### Характеристика реагента

**Принцип метода.** Метод заключается в том, что при использовании буфера трис-НСИ создаются оптимальные буферные свойства в тест-системах, предназначенных для исследования коагуляции.

### Фасовка:

**Буфер трис-НСИ** (концентрированный 20:1 раствор, 1 М), 10 мл — во флаконе.

### Аналитические характеристики реагента

Буфер трис-НСИ представляет собой прозрачную бесцветную жидкость, рН 7,4±0,1.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения реагента — класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Реагент используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

При работе с реагентом следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с реагентом следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке

и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- коагулометр (при отсутствии коагулометра — секундомер, водяная баня на +37 °С);
- цилиндр мерный вместимостью 200 мл;
- вода дистиллированная;
- набор реагентов «Тромбо-тест» (ООО фирма «Технология-Стандарт»);
- плазма-калибратор («Мультитех-калибратор» кат. № 773, производитель ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование — сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, признаки гемолиза и полученной более 2 ч назад, а также подвергавшейся предварительному замораживанию.

### Приготовление реагентов и проведение анализа

#### 1. Подготовка реагента к работе

##### 1.1. Подготовка буфера трис-НСИ

Содержимое флакона с концентрированным буфером трис-НСИ перенести в мерный

цилиндр и довести объем дистиллированной водой до **200 мл**. В результате получают рабочий раствор буфера трис-НСI, который хранят в закрытом флаконе при температуре +2... +8 °С до 1 нед.

Для приготовления рабочего раствора тромбина смешать в пробирке один объем маточного раствора с указанным в паспорте к набору реагентов «Тромбо-тест» объемом рабочего раствора буфера трис-НСI. Полученный рабочий раствор тромбина при добавлении к плазме-калибратору должен иметь активность 15-16 с. В случае необходимости к раствору добавить небольшое количество буфера или маточного раствора тромбина для получения требуемой активности последнего.

### 1.2. Получение плазмы-калибратора

Плазма-калибратор в состав комплекта не входит. Для получения калибровочных значений АПТВ пригоден один из двух, представленных ниже вариантов:

**Вариант 1.** Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равных пропорциях.

**Вариант 2.** Во флакон с «Мультитех-калибратором» (кат. № 773) внести 1,0 мл дистиллированной воды растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин.

### 2. Проведение анализа

Ход определения дан для набора реагентов «Тромбо-тест» ООО фирмы «Технология-Стандарт».

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл плазмы-калибратора и прогреть ее при температуре +37 °С.
2. По истечении 1 мин инкубации в кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также инструкцию к коагулометру).

### Условия хранения и применения реагента

Концентрированный раствор буфера трис-НСI рассчитан на приготовление 200 мл рабочего раствора.

Реагент необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности реагента (**24 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка реагента при температуре до +25 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание реагента не допускается.

Рабочий раствор буфера трис-НСI можно хранить в закрытом флаконе при температуре +2... +8 °С не более 1 нед. в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагента. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагента могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества реагента «Буфер трис-НСI», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Сайт компании [www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# БУФЕР ТРИС-НСI с гепарином

## Инструкция по применению

343

Каталожный  
номер набора

Только для  
*in vitro*  
диагностики

### Назначение

Буфер трис-НСI с гепарином предназначен для приготовления разведений при определении концентрации антитромбина набором реагентов «ХромоТех-Антитромбин».

### Фасовка:

**Буфер трис-НСI с гепарином**, 3,5 мл — во флаконе.

### Аналитические характеристики реагента

Буфер трис-НСI с гепарином представляет собой прозрачную бесцветную жидкость, рН 8,25±0,05.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения реагента — класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

При работе с реагентом следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с реагентом следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

### Оборудование, материалы, реагенты

- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- набор реагентов «ХромоТех-Антитромбин» (ООО фирма «Технология-Стандарт»).

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2–3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия — 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2–3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование — сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

### Приготовление реагента и проведение анализа

#### 1. Подготовка реагента к работе

Буфер трис-НСI с гепарином готов к использованию и не требует дополнительных разведений.

#### 2. Проведение анализа

Методика использования раствора буфера трис-НСI с гепарином указана в Инструкции к набору реагентов «ХромоТех-Антитромбин».

### Условия хранения и применения реагента

Хранение реагента должно проводиться при температуре 2-8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Не следует смешивать рабочие реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества Буфера трис-НСI с гепарином, следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; (3852) 27-13-00, 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39; e-mail: mail@tehnologia-standart.ru

### **Литература**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Мамаев А.Н., Макаров В.А., Воюшина Т.Л., Неведрова О.А., Шилова А.Н., Зяблицкая Н.К. Новый метод определения антитромбина III и его диагностическое значение // Клиническая лабораторная диагностика. – № 7. – 2004. – С. 18-21.
3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.



# ГЕПАСОРБ

024

Только для  
*in vitro*  
диагностики

Каталожный  
номер набора

## Инструкция по применению набора сорбентов для оценки гемостаза в гепаринизированной плазме крови

### Назначение

Набор **Гепасорб** предназначен для проведения сорбции гепарина из плазмы крови больных, получающих этот антикоагулянт, с последующим определением в обработанной плазме крови тромбинового времени (ТВ) свертывания.

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Принцип метода основан на способности сорбентов связывать в плазме крови гепарин путем образования нерастворимого комплекса “сорбент-гепарин”, который удаляется последующим центрифугированием.

Сорбент Гепасорб-1 используется для удаления гепарина из плазмы крови только при определении ТВ.

### Состав набора:

1. Сорбент Гепасорб-1, 1,0 г – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Пригодность сорбента, оценивается по его способности связывать гепарин в концентрации 5,0 ед./млв пулированной свежей или лиофилизированной плазме крови с аттестованным значением в нормальной области по ТВ.

Исследование крови на фоне лечения непрямыми антикоагулянтами, дезагрегантами и фибринолитиками не влияет на приведенную выше способность сорбента связывать гепарин.

В плазме крови, содержащей гепарин (5,0 ед./мл), отмечается отсутствие свертывания по ТВ в течение 120 с. В сорбированной свежей цитратной плазме крови определяются неизмененные, по сравнению с аттестованными значениями, показатели свертывания. В сорбированной лиофилизированной плазме крови определяются показатели по ТВ – 16-20 с.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Гепасорб-1 используются только для применения *in vitro*.

При выполнении коагуляционных тестов следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Реагент в используемых концентрациях не токсичны.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- весы торсионные;
- пипетки вместимостью 1,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трехзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

### **Приготовление реагентов и проведение сорбции гепарина**

В пробирку внести 10,0 мг сорбента Гепасорб-1 и 1,0 мл исследуемой плазмы крови. Постоянно встряхивая, перемешать плазму с сорбентом при комнатной температуре (+18... +25 °С) в течение 8 мин, исключая образование пены и осадка на дне пробирки. Затем смесь центрифугировать при 1000-1500 об/мин (120 g) в течение 2 мин. Надосадочную жидкость осторожно перенести с помощью пипетки в другую пробирку. Плазму крови после сорбции можно использовать для оценки ТВ в течение 1 ч в условиях хранения при комнатной температуре.

### **Дополнительные возможности при использовании сорбента гепарина**

Сорбент Гепасорб-1 позволяет также определить активность антитромбина III (по Abildgaard) в плазме крови больных, получающих гепаринотерапию [3].

Сорбцию гепарина из плазмы выполняют по методике, приведенной выше.

### **Условия хранения и применения**

Набор рассчитан на проведение сорбции гепарина каждым из сорбентов в **100 мл** плазмы. Расход реагентов на 1 мл плазмы: 10 мг.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка набора при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Сорбент можно хранить после начала его использования в течение 12 мес при температуре +2... +8 °С при условии достаточной герметизации флаконов.

### **Литература**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.
3. Момот А.П., Соколов Э.А., Цеймах И.Я. Значение элиминации из плазмы гепарина для оценки коагулограммы и активности антитромбина III // Клини. лаб. диагностика. – 1995. – N 5. – С. 31-34.

# КАЛЬЦИЯ ХЛОРИД

022

Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению реагента для исследования гемостаза

Каталожный  
номер набора

### Фасовка:

**Кальция хлорид** (концентрированный 20:1 раствор, 0,5 М), 10 мл – во флаконе.

### Назначение

Применяется в коагуляционных тестах, в частности, при определении каолинового времени свертывания, активированного парциального (частичного) тромбопластинового времени (АПТВ/АЧТВ) и других методиках.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Кальция хлорид используется только для применения *in vitro*.

При выполнении коагуляционных тестов следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, водяная баня на +37 °С);
- перчатки резиновые хирургические;
- цилиндр мерный вместимостью 200 мл;
- пипетки вместимостью 0,1; 1,0 мл;
- вода дистиллированная.

### Рекомендации по использованию

Для приготовления рабочего раствора кальция хлорида в день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция

хлорида развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды). Получают 0,277 % (или 0,025 М) раствор кальция хлорида.

### Условия хранения и применения

Хранение концентрированного кальция хлорида должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Концентрированный раствор кальция хлорида после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2 мес при условии герметизации флакона. Для увеличения срока годности концентрированного раствора кальция хлорида с 2 до 4 мес рекомендуется разделить его после вскрытия флакона на 2 равные части, одну из которых в герметично закрытом виде хранить при температуре -16... -20 °С.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 1 дня или не более 2-х дней при температуре +2... +8 °С. Не допускается сливание остатков этого раствора после дня работы с герметично закрытым и хранящимся при температуре +2... +8 °С раствором.

В связи со способностью поглощать углекислоту, пары кислот и другие примеси в воздухе, растворы (концентрированный и рабочий) кальция хлорида должны находиться в герметично закрытой таре, в противном случае свертывающая активность препарата снижается и время свертывания удлинится.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

# КАОЛИН

021Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению набора реагентов для исследования гемостаза

Каталожный  
номер набора

### Назначение

1. Используется для определения каолинового времени свертывания бедной или богатой тромбоцитами плазмы (активированное время рекальцификации – АВР).
2. Каолин в смеси с кефалином (АПТВ-реагент) применяется в методах оценки внутреннего пути свертывания, в частности, при определении активированного парциального (частичного) тромбопластинового времени (АПТВ или АЧТВ).

### Характеристика набора

**Принцип метода.** Определяется время свертывания плазмы крови в условиях контактной (каолином) активации процесса в присутствии ионов кальция.

### Состав набора:

1. **Каолин** (концентрированная суспензия 200:1 в дистиллированной воде), 1 мл – 1 фл.
2. **Растворитель для каолина** (концентрированный 20:1 раствор), 10 мл – 1 фл.

### Аналитические характеристики набора

Коэффициент вариации результатов определения каолинового времени не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения каолинового теста в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Каолин используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

При выполнении коагуляционных тестов следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, водяная баня на +37 °С);
- цилиндр мерный вместимостью 200 мл;
- вода дистиллированная;
- пробирки стеклянные;
- дозаторы пипеточные на 0,1 и 3,0 мл;
- секундомер;
- перчатки резиновые хирургические.

### Приготовление анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 1000 об/мин (240 g) в течение 7 мин. Богатую тромбоцитами плазму переносят в другую пробирку и повторно центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают плазму, бедную тромбоцитами.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

**Примечание:** Бедная тромбоцитами плазма используется для определения каолинового времени бедной тромбоцитами плазмы. Богатая тромбоцитами плазма может быть использована для определения каолинового времени в такой плазме (или АВР).

## **Приготовление реагентов и определение каолинового времени**

### **1. Подготовка реагентов к работе Разведение концентрированной суспензии каолина**

Растворитель для каолина и концентрированную суспензию каолина количественно перенести из флаконов в мерный цилиндр и общий объем довести дистиллированной водой до 200,0 мл. В результате получают рабочую суспензию каолина.

### **2. Проведение анализа Коагулометрический вариант:**

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл исследуемой плазмы и прогреть ее при +37 °С в течение 1 мин.
2. В кювету добавить 0,1 мл рабочей суспензии каолина, имеющей комнатную температуру.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

### **Мануальный вариант:**

1. К 0,1 мл исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл рабочей суспензии каолина.
2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и включить секундомер.
4. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

Нормативные показатели каолинового времени зависят от техники определения, варианта коагулометра и др. Рекомендуется отработать нормативы в каждой лаборатории самостоятельно.

## **Условия хранения и применения**

Набор, состоящий из каолина и растворителя для каолина, рассчитан на проведение до **1000 определений** каолинового времени свертывания.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Рабочую суспензию каолина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес. Для увеличения срока годности рабочей суспензии каолина с 1 до 4 мес рекомендуется разделить ее сразу после приготовления на 4 равные части, три из которых в герметично закрытом виде хранить при температуре -16... -20 °С.

## **Литература**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. - 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. - СПб.: ФормАТ, 2006. - 208 с.

# КЕФАЛИН

020Только для  
*in vitro*  
диагностики

## Инструкция по применению реагента для исследования гемостаза

Каталожный  
номер набора

### Фасовка:

**Кефалин** (лиофильно высушенный фосфолипидный компонент) – во флаконе.

### Назначение

Применяется в методах оценки внутреннего пути свертывания, в частности, при определении активированного парциального (частичного) тромбопластинового времени (АПТВ или АЧТВ) и кефалинового времени (частичного тромбопластинового времени – ЧТВ).

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Кефалин используется только для применения *in vitro*.

При выполнении коагуляционных тестов следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра-секундомер, водяная баня на +37 °С);
- перчатки резиновые хирургические;
- дистиллированная вода;
- пипетки вместимостью 0,1 и 2,0 мл.

### Рекомендации по использованию

#### Разведение кефалина

Во флакон с кефалином внести **2,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и энергичном покачивании в течение 2 мин. В результате получают 1,5 % раствор кефалина, который до применения следует выдержать в течение часа при комнатной температуре.

### Варианты применения

#### А. Определение АПТВ

Для определения АПТВ дополнительно требуются: каолин (кат. номер 021), буфер трис-НСI (кат. номер 027) и кальция хлорид (кат. номер 022), которые могут быть поставлены ООО фирмой “Технология-Стандарт”. АПТВ может быть выполнено мануально или при помощи коагулометра.

#### Приготовление АПТВ-реагента

Для приготовления АПТВ-реагента смешать в пробирке **0,1 мл** раствора кефалина с **3,0 мл** суспензии каолина (взятого в концентрации 5 мг/мл для нефракционированного каолина или 0,25 мг/мл для легкой фракции каолина). Перед применением АПТВ-реагент встряхнуть.

#### Проведение анализа

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл исследуемой плазмы и прогреть ее при +37 °С в течение 1 мин.
2. В кювету добавить 0,1 мл АПТВ-реагента, имеющего комнатную температуру.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

#### Б. Определение кефалинового времени (ЧТВ)

Для определения ЧТВ дополнительно требуются: буфер трис-НСI (рН 7,4) и кальция хлорид (0,277 % раствор). ЧТВ может быть выполнено мануально или при помощи коагулометра.

### **Приготовление кефалинового реагента**

Для приготовления кефалинового реагента смешать в пробирке **0,1 мл** раствора кефалина с **3,0 мл** трис-HCl буфера (0,05 М, рН 7,4).

### **Проведение анализа**

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл исследуемой плазмы и прогреть ее при +37 °С в течение 1 мин.
2. В кювету добавить 0,1 мл кефалинового реагента, имеющего комнатную температуру.
3. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и зарегистрировать время свертывания (*см. также Инструкцию к коагулометру*).

### **Условия хранения и применения**

Кефалин рассчитан на проведение до **250-500 определений** по методике АПТВ или ЧТВ.

Хранение лиофильно высушенного кефалина должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Раствор кефалина можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес, не замораживать.

### **Литература**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

# ЛЕБЕТОКС

## Инструкция

**018**

Только для  
*in vitro*  
диагностики

Каталожный  
номер набора

### Фасовка:

**Лебетокс** (лиофильно высушенный) – во флаконе.

### Назначение

Коагулаза яда гюрзы (лебетокс) осуществляет запуск свертывания крови путем активации фактора X в присутствии ионов кальция и фактора V. Это действие усиливается фосфолипидным компонентом (плазменными фосфолиппротеидными мембранами, кефалином). При дефиците фактора X время свертывания в лебетоксовом тесте (ЛЕТ) удлиняется, а при дефиците фактора VII, в отличие от протромбинового теста, коагулирующий эффект лебетокса не ослабляется.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Раствор лебетокса используется только для применения *in vitro*.

При выполнении коагуляционных тестов следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Центрифуга лабораторная;
- секундомер, водяная баня на +37 °С;
- перчатки резиновые хирургические;
- пипетки вместимостью 0,1 и 0,2-1,0 мл;
- дистиллированная вода;

- свежеполученная цитратная бедная тромбоцитами контрольная плазма (применение РНП-плазмы ООО фирмы «Технология-Стандарт», лиофилизированной плазмы других производителей, а также замороженной плазмы крови не рекомендуется).

### Приготовление анализируемых образцов плазмы

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

### Приготовление реагента и проведение анализа

#### 1. Подготовка реагента к работе Разведение лебетокса

Во флакон с лебетоксом внести *указанный в Паспорте к реагенту* объем дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 10 мин. В результате получают маточный раствор лебетокса.

Рабочий раствор лебетокса получают путем смешивания в пробирке 0,1 мл маточного раствора с *указанным в Паспорте* объемом *дистиллированной воды*. Активность полученного раствора проверяется в лебетоксовом тесте, как описано ниже. Время свертывания контрольной нормальной плазмы должно составлять **20-30 с**.

При другой активности рабочего раствора (менее 20 или более 30 с) в пробирку дополнительно ввести 0,1 мл маточного раствора лебетокса или требуемое количество дистиллированной воды, осуществляя подгонку активности лебетокса



к нужному уровню.

## 2. Проведение анализа

1. К 0,1 мл исследуемой бедной тромбоцитами цитратной плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл рабочего раствора лебетокса.

2. Пробирку встряхнуть и поместить на 30 с в водяную баню при температуре +37 °С.

3. К смеси добавить 0,1 мл 0,277 % раствора кальция хлорида (предварительно подогретого на водяной бане при температуре +37 °С) и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

Аналогичное исследование провести на контрольной нормальной плазме (используется только свежеполученная бедная тромбоцитами плазма от практически здоровых людей).

## 3. Чтение результатов

Результат выражают в секундах, сравнивая время свертывания контрольной нормальной и исследуемой плазмы.

**Совпадение** результатов ЛЕТ в исследуемом и контрольном образцах плазмы (разница во времени свертывания не более 3 с) говорит об отсутствии дефицита фактора X, V, II и I (фибриногена).

**Удлинение** времени свертывания по ЛЕТ (в сравнении с контролем) более, чем на 3 с, свидетельствует о возможном изолированном или сочетанном дефиците факторов X, V, II и (или) I. Для дифференциальной диагностики видов этой патологии проводят дополнительные исследования, включающие в себя протромбиновый тест, тест с ядом эфы (эхитоксом), анцистроном (аналогом рептилазы).

Удлинение времени свертывания по протромбиновому тесту при нормальном ЛЕТ свидетельствует о дефиците фактора VII.

## Условия хранения и применения

Раствор лебетокса рассчитан на выполнение до **100 определений** ЛЕТ.

Хранение сухого лебетокса должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**24 мес**).

Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Маточный раствор лебетокса можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес, не замораживать.

Рабочий раствор лебетокса можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 1 дня или не более 3 дней

при температуре +2... +8 °С.

**Внимание!** Для ЛЕТ рекомендуется применять лабораторную посуду, которая маркируется и сушится отдельно от остальной.

## Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Диагностика нарушений гемостаза с помощью змеиных ядов: Методические рекомендации МЗ СССР. – М. – 1988. / З.С. Баркаган и др.
3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинко-лабораторной диагностики. – СПб.: Формат, 2006. – 208 с.

# ТРОМБОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА

## Инструкция по применению

**132**Каталожный  
номер набораТолько для  
*in vitro*  
диагностики

### Фасовка:

**Тромбоциты человека** (формализированные, лиофильно высушенные) – во флаконе.

### Назначение

Обработанные формалином тромбоциты применяются для определения уровня фактора Виллебранда в плазме крови при диагностике болезни Виллебранда. В основе анализа лежит определение интенсивности агглютинации тромбоцитов, индуцированной ристомизином и фактором Виллебранда, содержащимся в плазме больного. Чем ниже активность плазменного фактора Виллебранда, тем менее выражена агглютинация тромбоцитов. Определение проводят на агрегометре или фотоэлектроколориметре по Born.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Тромбоциты используется только для применения *in vitro*.

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

При работе с тромбоцитами следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Пипетки вместимостью 0,1-1,0 и 2,0 мл;
- перчатки резиновые хирургические;
- дистиллированная вода.

### Рекомендации по использованию

#### А. Разведение тромбоцитов

Во флакон с тромбоцитами внести **2,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и покачивании в течение 3 мин. В результате получают рабочую суспензию тромбоцитов.

#### Б. Методика определения активности фактора Виллебранда

*Может быть выбрана произвольно из следующих источников:*

1. Определение фактора Виллебранда визуально (*принцип Brinkhaus et al.; Evans, Austen; методика по Л.П. Папаян – Лабораторное дело. – 1982. – № 5. – С. 257*).
2. Определение фактора Виллебранда с применением фотоэлектроколориметра (*принцип Evans, Austen; методика по О.А. Цигулевой – Руководство: Лабораторные методы исследования системы гемостаза / Под ред. Е.Д. Гольдберга. – Томск, 1980. – С. 114*).
3. Определение фактора Виллебранда на агрегометре (*описание методики – см. техническую документацию к прибору*).

### Условия хранения и применения

Хранение лиофильно высушенных тромбоцитов должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**36 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Рабочую суспензию тромбоцитов можно хранить при комнатной температуре не более 1 дня или не более 2 дней при температуре +2... +8 °С.

### Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормАТ, 2006. – 208 с.

# ЦИТРАТ НАТРИЯ

## Инструкция по применению реагента для стабилизации крови при исследовании гемостаза

### Фасовка:

**Цитрат натрия** (трёхзамещенный, 5,5-водный на 50 мл 3,8% раствора) – во флаконе.

### Назначение

Применяется в виде водного раствора для стабилизации крови при исследовании системы гемостаза.

### Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Цитрат натрия используется только для применения *in vitro*.

При выполнении коагуляционных тестов следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

### Оборудование, материалы, реагенты

- Цилиндр мерный вместимостью не менее 50 мл;
- перчатки резиновые хирургические;
- вода дистиллированная.

### Рекомендации по использованию

#### А. Разведение цитрата натрия

Содержимое флакона растворить в мерном стеклянном цилиндре в дистиллированной воде. Общий объем довести до **50,0 мл**. В результате получают раствор цитрата натрия.

#### Б. Забор и стабилизация крови

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8% раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1.

Приведенное соотношение допустимо лишь

028

Каталожный номер набора

Только для *in vitro* диагностики

при нормальном гематокритном показателе (**40-45 %**) в связи с тем, что цитрат натрия остается в плазме и не проникает в клетки крови. Поэтому при высоком гематокритном показателе (свыше 70 %), при полиглобулии, эритремии и др., в крови создается избыточная концентрация цитрата натрия, приводящая к "ложной" гипокоагуляции по тестам коагулограммы. Напротив, при снижении гематокрита (ниже 35 %), например, при анемии, обнаруживается "ложная" гиперкоагуляция и кровь может свернуться в пробирке еще до исследования. Избежать ошибки позволяет перерасчет объема стабилизатора в соответствии с измененным гематокритом (см. таблицу).

### Соотношение объемов 3,8 % раствора цитрата натрия и стабилизированной крови

Показатель гематокрита, %	Раствор антикоагулянта, мл	Объем крови вместе с антикоагулянтом, мл
20-21	1,4	10,0
22-27	1,3	10,0
28-33	1,2	10,0
34-39	1,1	10,0
40-45	1,0	10,0
46-51	0,9	10,0
52-57	0,8	10,0
58-60	0,7	10,0
более 65	0,5	10,0

### в зависимости от показателя гематокрита

У здоровых доношенных новорожденных (до 5-го дня) в условиях физиологической полиглобулии гематокритный показатель составляет 55-60 %.

### Условия хранения и применения

Хранение реагента должно проводиться в сухом месте при комнатной температуре (+18... +25 °С) в течение всего срока годности (**36 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут.

Раствор цитрата натрия можно хранить при температуре +2...+8 °С не более 7 дней в герметично закрытой посуде.

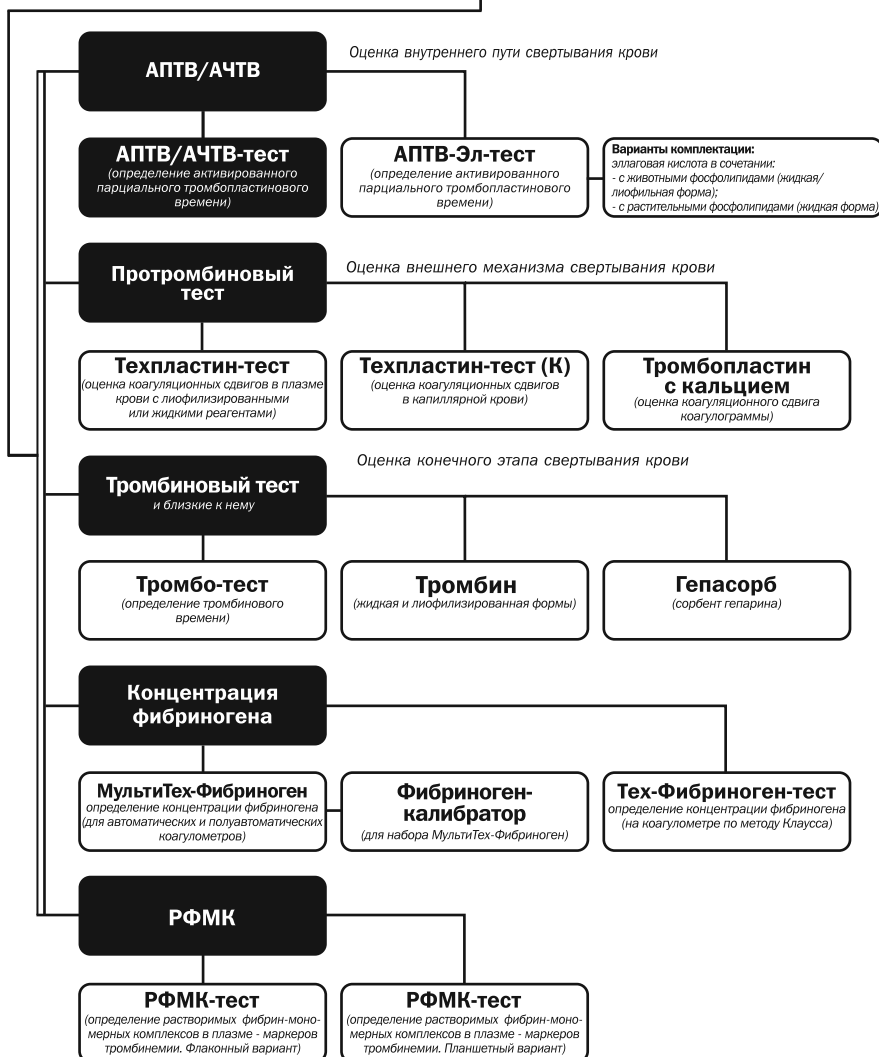
### Литература

1. Руководство: Лабораторные методы исследования системы гемостаза / Под ред. Е.Д. Гольдберга. – Томск, 1980. – 311 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормАТ, 2006. – 208 с.

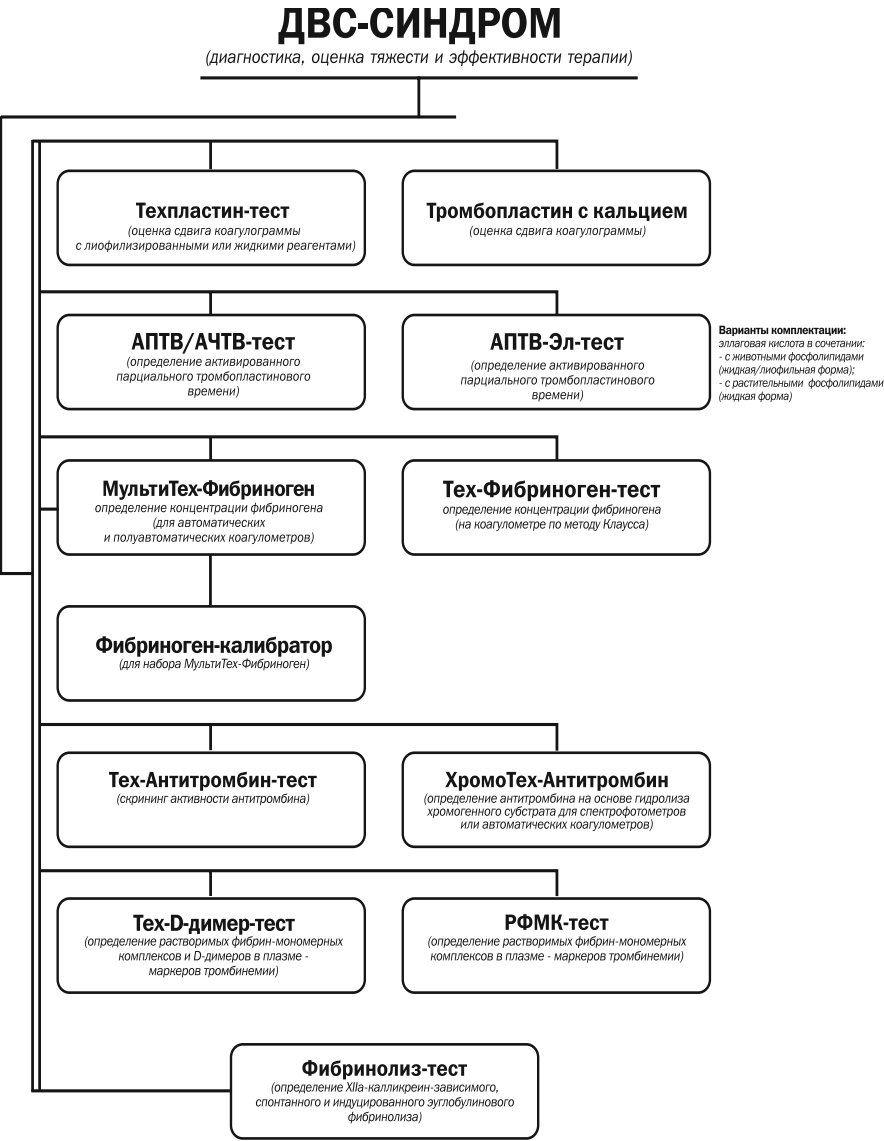
**Диагностика основных видов нарушений  
гемостаза наборами и реагентами фирмы  
«ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ»**

# КОАГУЛОГРАММА

(скрининг нарушений системы гемостаза)



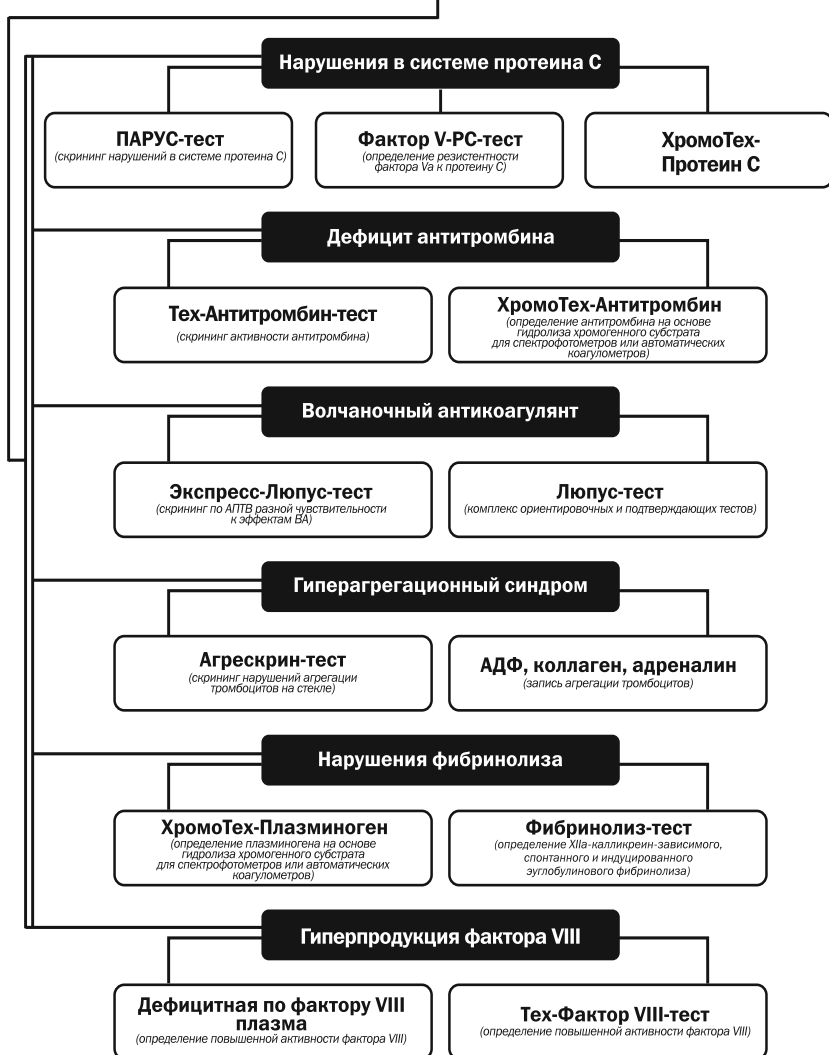
Диагностика основных видов нарушений  
гемостаза наборами и реагентами фирмы  
«ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ»



**Диагностика основных видов нарушений  
гемостаза наборами и реагентами фирмы  
«ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ»**

## ТРОМБОФИЛИИ

(установка причин тромбозов, тромбоэмболий и инфарктов)



## Антифосфолипидный синдром

(диагностика, оценка эффективности терапии)



### ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ АНТИФОСФОЛИПИДНОГО СИНДРОМА

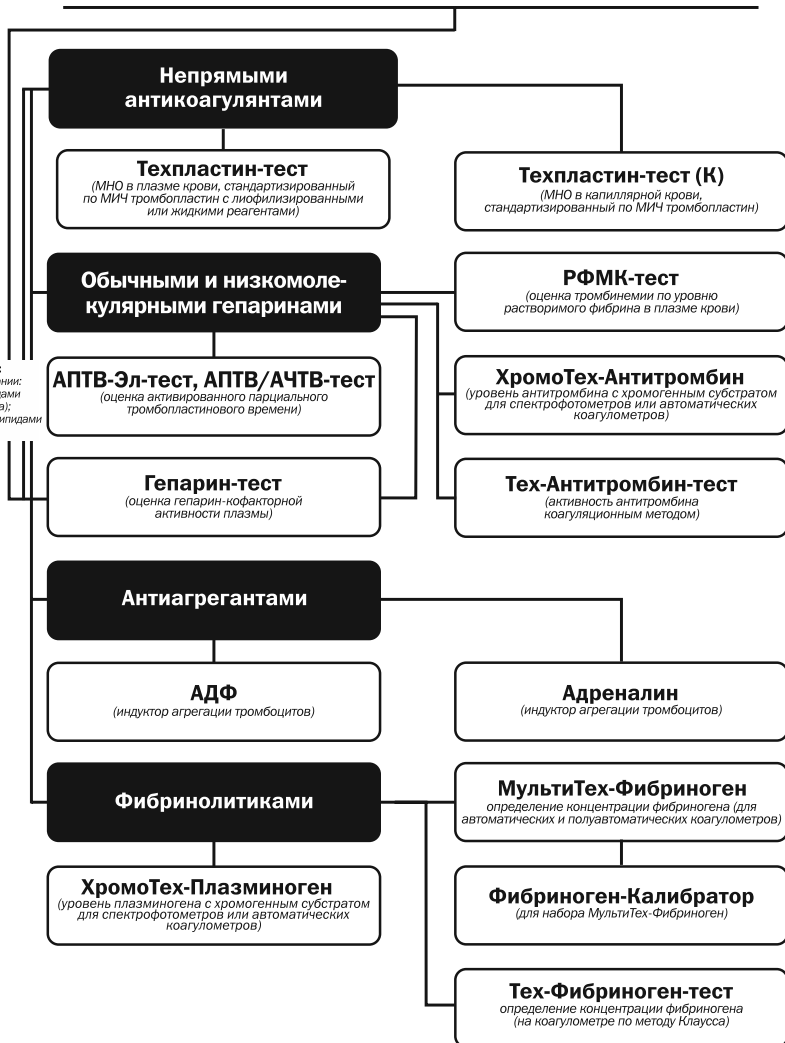
(Harris E., Pierangeli S., 2008)

Клинические критерии	Лабораторные критерии
<p><b>1. Сосудистый тромбоз</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Один или более случаев артериального и/или венозного тромбоза или тромбоза мелких сосудов в любом органе или ткани;</li> <li>– Тромбоз должен быть подтвержден доплеровским исследованием или гистологически;</li> <li>– Морфологически должны быть признаки тромбоза без значительного воспаления сосудистой стенки.</li> </ul> <p><b>2. Патология беременности</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Три и более необъяснимых случая прерывания беременности до 10 недель гестации с исключением анатомических, генетических, гормональных причин и хромосомных нарушений;</li> <li>– один или более случаев внутриутробной гибели нормального плода после 10 недель гестации;</li> <li>– один или более случаев преждевременных родов недоношенным плодом до 34 недель гестации, протекающей с выраженной фетоплацентарной недостаточностью или тяжелым гестозом.</li> </ul>	<p><b>1. Антикардиолипидные антитела</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– наличие изотопов Ig G и Ig M в высоких титрах в двух и более исследованиях с промежутком не менее 6 недель;</li> <li>– выявление стандартизированным ELISA методом антител Ig G, Ig M к <math>\beta_2</math>-гликопротеину I.</li> </ul> <p><b>2. Волчаночный антикоагулянт</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Обнаруживается в двух или более последовательных исследованиях с промежутком не менее 6 недель.</li> </ul>

**Диагностика основных видов нарушений  
гемостаза наборами и реагентами фирмы  
«ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ»**

**Контроль за антиромботической терапией**

**Варианты комплектации:**  
эллаговая кислота в сочетании:  
- с животными фосфолипидами  
(жидкая/лиофильная форма);  
- с растительными фосфолипидами  
(жидкая форма)



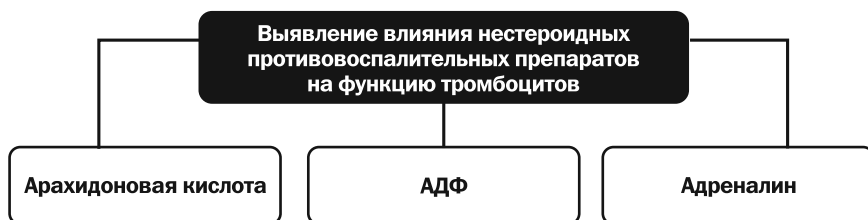
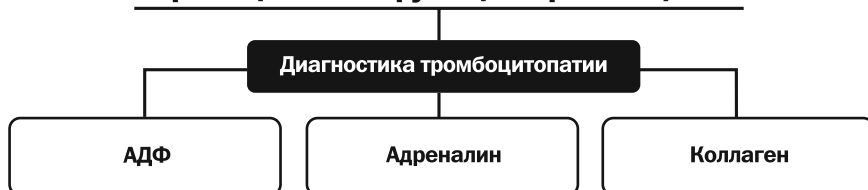


Диагностика основных видов нарушений  
гемостаза наборами и реагентами фирмы  
«ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ»



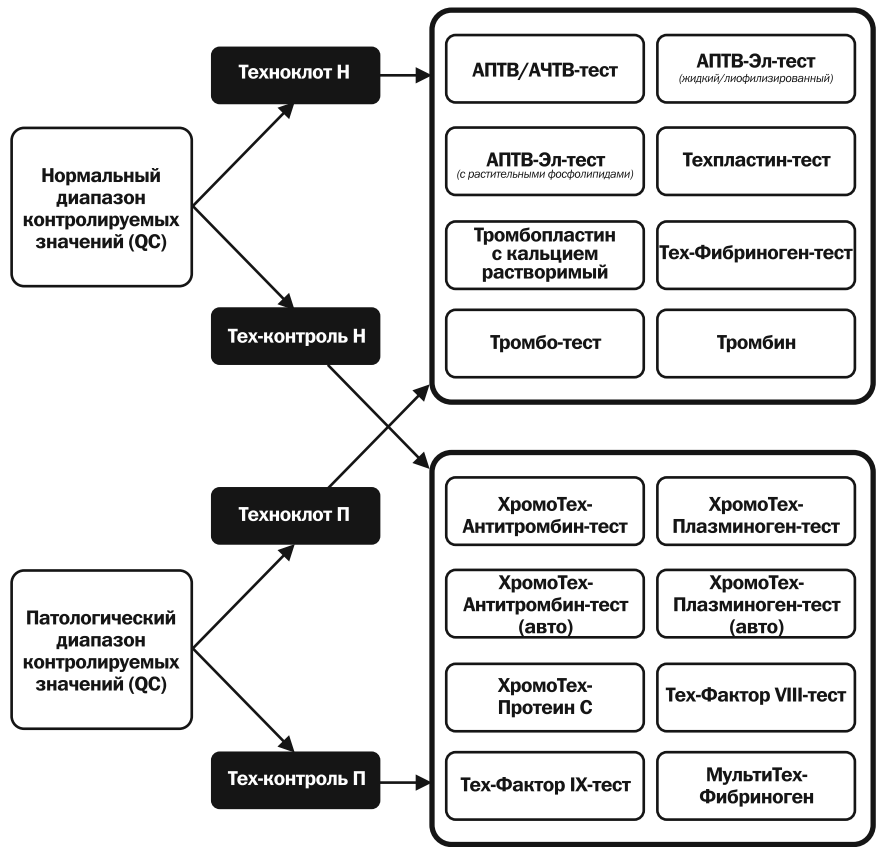
**Диагностика основных видов нарушений  
гемостаза наборами и реагентами фирмы  
«ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ»**

## **Реагенты для исследования агрегационной функции тромбоцитов**



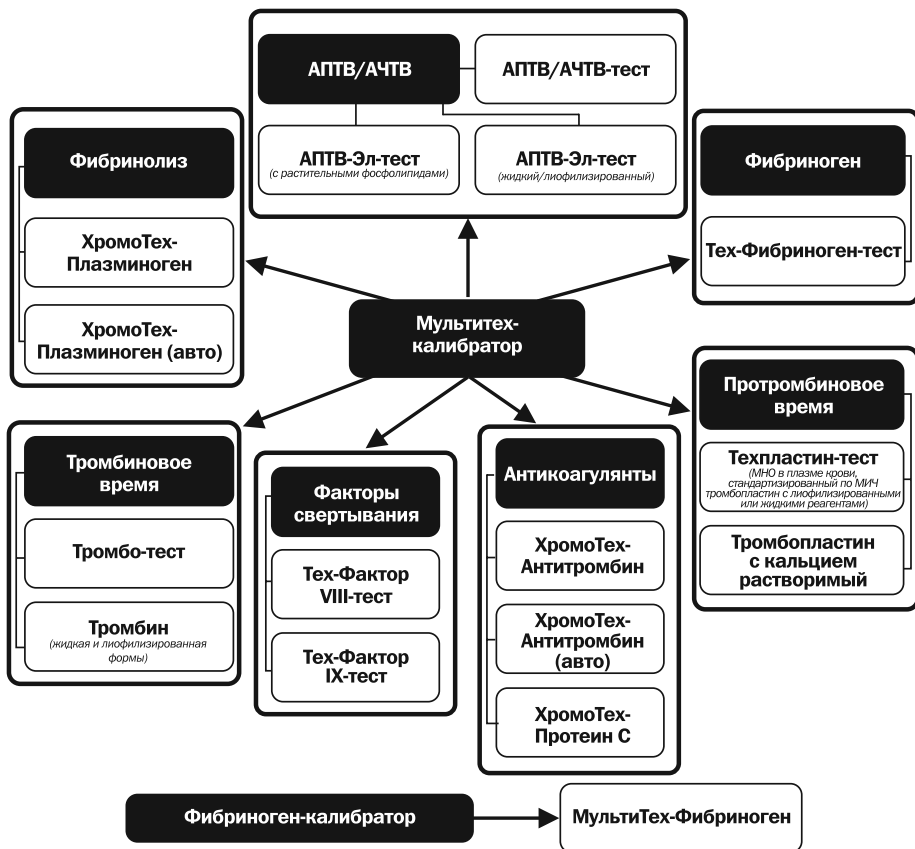
Диагностика основных видов нарушений  
гемостаза наборами и реагентами фирмы  
«ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ»

Реагенты для выполнения внутрилабораторного  
контроля качества (QC), выпускаемые  
ООО фирмой «Технология-Стандарт»



**Диагностика основных видов нарушений  
гемостаза наборами и реагентами фирмы  
«ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ»**

**Калибраторы для исследования  
системы гемостаза, выпускаемые  
ООО фирмой «Технология-Стандарт»**



# **ПРИНЦИПЫ И АЛГОРИТМЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА**

**По материалам руководства Момота А.П.**

**Принципы и алгоритмы клинико-  
лабораторной диагностики нарушений  
гемостаза. – Барнаул: АГМУ, 2004. – 104 с.**

## **I. Введение**

Биологическая система, обеспечивающая, с одной стороны, сохранение жидкого состояния циркулирующей крови, а с другой, – предупреждение и купирование кровотечений, обозначается как система гемостаза. Это двуединство, казалось бы, противоположных, но необходимых для сохранения жизни организма, функций предопределяет сопряженное участие в механизмах гемостаза различных морфологических структур и биохимических процессов, многоступенчатость их взаимодействия, функционирование на всех этапах механизмов самоускорения и самоторможения, активации и инактивации.

Наибольшее значение система гемостаза имеет для поддержания нормального кровотока и, вместе с тем, предупреждения и купирования кровотечений в тонкостенных и легко травмируемых сосудах малого калибра (до 100 мкм в диаметре). Поэтому от совершенства функционирования указанной системы в значительной степени зависят эффективность кровоснабжения тканей, предупреждение и купирование геморрагий, тромбозов, ишемий и инфарктов органов, защита от диссеминации бактерий и токсинов из очагов поражения по организму и т.д. Всем этим определяется важнейшее общебиологическое значение системы гемостаза и весьма существенная роль нарушений в ней в патогенезе подавляющего большинства заболеваний.

Гемостаз осуществляется тремя взаимодействующими между собой функционально-структурными компонентами:

- стенками кровеносных сосудов;
- клетками крови, в первую очередь, – тромбоцитами;
- плазменными ферментными (протеолитическими) системами-свертывающей, плазминовой (фибринолитической), калликреин-кининовой и комплемента

Ознакомиться с современными представлениями о функционировании системы гемостаза в условиях нормы и патологии можно в руководствах и монографиях [2,8,30,43,45,51,60,64,67,104,108].

Задачей любого лабораторного исследования является, как известно, получение результатов, максимально приближенных к истинным значениям показателя в организме больного. На достижение подобного уровня работы клинико-диагностическая лаборатория расходует немалые силы и средства, поскольку эпизоды ложной диагностики неизбежно влекут за собой серьезные материальные и моральные утраты [81,108].

В свою очередь очевидно, что учет и преодоление возможных погрешностей лабораторной диагностики основывается на знании:

1. Этапов и методических принципов диагностического процесса. (в данной конкретной области лабораторной диагностики).

## 2. Нормативных, правовых документов и правил статистической обработки результатов.

В современных условиях, несмотря на известные экономические сложности у лечебных учреждений, широкое распространение и огромный интерес клиницистов и специалистов в области лабораторной диагностики проявляется к нарушениям системы гемокоагуляции (гемостаза). В немалой степени это объясняется прогрессом знаний в данной отрасли и открывающимися новыми возможностями в области распознавания и лечения самых разных видов патологии человека в практике гематологов, акушер-гинекологов, реаниматоров-анестезиологов, травматологов, урологов, кардиологов, невропатологов, пульмонологов, педиатров и врачей других специальностей [8,31,36,43,64,66,67].

Эти возможности раскрываются:

- в определении причин кровоточивости и тромбозов (табл. 1);

Таблица 1

### Основные варианты патологии гемостаза

Кровотечения	Внутрисосудистое свертывание крови
<i>Наблюдаются при:</i> 1. Тромбоцитопении или дисфункции тромбоцитов 2. Болезни Виллебранда 3. Гемофилии (А,В,С) 4. Клинической манифестации ДВС-синдрома	<i>Виды:</i> 1. Артериальные, венозные и смешанные тромбозы, обусловленные тромбофилией 2. Тромбоэмболии 3. ДВС-синдром (острый, подострый, хронический)

- в подборе специфических методов профилактики и лечения кровотечений и тромбозов;
- в отборе групп риска для предупреждения послеоперационных кровотечений и тромбоэмболий;
- в снижении летальности при неотложных и критических состояниях, протекающих с ДВС-синдромом;
- в решении проблемы привычного невынашивания беременности при антифосфолипидном синдроме, профилактике отторжения тканей и органов при трансплантациях и др.

## II. Принципы и схемы обследования системы гемостаза

Немало лабораторий, в том числе в крупных клинических центрах, продолжает выполнять анализы по малоценным методам, имеющим лишь историческое значение, таких, как время рекальцификации, толерантность плазмы к гепарину, этаноловая и протаминсульфатная пробы, оценка результатов протромбинового теста по протромбиновому индексу и др. (табл. 22). В настоящее время в России согласована среди ведущих специалистов и опубликована современная номенклатура методов лабораторной диагностики (см. приложение 1), где приводится исчерпывающий перечень таких приемов для распознавания нарушений гемостаза [93].

Весь спектр включенных в нее методов условно разделяется на следующие группы:

1.Клинико-функциональные (пробы при определении времени кровотечения, резистентности микрососудов, манжеточная проба и др.;

2.Лабораторные, в том числе:

- по измерению числа и функции тромбоцитов (адгезии и агрегации) путем микроскопии или с использованием гематологических анализаторов и агрегометров;
- клоттинговые (по оценке времени свертывания путем мануальных или коагулометрических исследований);
- по измерению времени лизиса фибринового сгустка (при определении параметров фибринолиза);
- амидолитические (с использованием хромогенных субстратов к тромбину, плазмину, фактору Ха, XIIIa и др. и фотометров с фиксированной длины волны измерений);
- иммунологические методы, позволяющие выявить уровень искомого антигена (или аутоантител при антифосфолипидном синдроме), преимущественно за счет иммуноферментных определений и на основе агглютинации частиц латекса;
- методы выявления генетических аномалий полимеразной цепной реакцией-ПЦР (мутации Лейден – резистентности фактора Va к активированному протеину C, гена протромбина G 20210, гена метилентетрагидрофолатредуктазы – МТГФР и др.).

Обычная практика распознавания нарушений гемостаза в отечественных лабораториях неоднородна и может варьировать в разных клиниках от бесполезного выполнения одного-двух тестов (протромбиновый индекс, фибриноген) до использования перегруженного списка методов, часть из которых по информативности дублирует друг друга (например, этаноловая, орто-фенантролиновая и протамин-сульфатная пробы, либо параллельное измерение времени свертывания крови по Ли-Уайту, определение времени рекальцификации, свертывания в аутокоагуляционном тесте и по АПТВ). Очевидно, что эта область диагностики наименее стандартизирована видимо потому, что система мер оценки качества, используемая, например, в России, в биохимических и гематологических исследованиях с 60-70 годов, пришла в коагулологию значительно позже и упорядочивается лишь в последнее время. Достаточно сказать, что вариация результатов определений концентрации фибриногена по весовому методу Рутберг, в разных лабораториях может достигать от 50 до 100% [45,76].

В связи с этим представляется полезным сформулировать ряд принципов, следование которым поможет увеличить качество и доступность этого раздела лабораторной диагностики для больных в лечебно-профилактических учреждениях разного уровня [76-79].

**Первый принцип.** Объем и структура лабораторных исследований в конкретно взятом ЛПУ определяется главным образом клиническими задачами: профилем лечебного учреждения и контингентом больных. Вместе с тем, можно считать целесообразным выделение при массовом обследовании больных двух последовательных этапов диагностики: первичного скрининга, с использованием так называемых «глобальных» тестов (времени кровотечения, количества тромбоцитов в крови, активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), определение протромбинового и тромбинового времени свертывания, оценки уровня фибриногена и растворимого фибрина) и, в случае обнаружения изменений в этих пробах (или при наличии клинических показаний у больного –

кровоточивости, проявлений внутрисосудистого свертывания крови), выполнение уточняющих определений, позволяющих провести дифференциацию причин вскрытых нарушений.

В таблице 2 приведены типичные причины патологических отклонений семи «глобальных» скрининговых проб, совместное использование которых позволяет провести первичное выявление тех или иных нарушений гемостаза.

Таблица 2

**Основные причины нарушений в скрининговых («глобальных») тестах коагулограммы**

Метод исследования	Изменение показателя	Возможные причины
Время кровотечения (норма по Айви 4-8 мин)	Укорочение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• в случае гиперагрегации тромбоцитов (синдром «вязких» тромбоцитов).</li> </ul>
	Удлинение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• при снижении числа тромбоцитов в крови;</li> <li>• при снижении адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов врожденного или приобретенного генеза;</li> <li>• при дефиците фактора Виллебранда;</li> <li>• на фоне лечения гепарином и непрямыми антикоагулянтами;</li> <li>• при ДВС-синдроме (фаза гипокоагуляции);</li> <li>• при синдроме массивных гемотрансфузий, на фоне переливаний реополиглобулина, препаратов гидроксизтилкрахмала (инфукол, волекам, HES);</li> <li>• при уремии;</li> <li>• при парапротеинемии, миелопролиферативных и миелодиспластических нарушениях.</li> <li>• при патологии стенки сосудов.</li> </ul>
Количество тромбоцитов в крови (норма $170-350 \times 10^9/\text{л}$ )	Снижение числа	<ul style="list-style-type: none"> <li>• при остром ДВС-синдроме;</li> <li>• при остром лейкозе и миелодиспластических синдромах;</li> <li>• при химиотерапии и лучевой терапии;</li> <li>• при тромботической тромбоцитопенической пурпуре и гемолитико-уремическом синдроме;</li> <li>• при спленомегалии и гепато-лиенальном синдроме;</li> <li>• при гепарин-индуцированной тромбоцитопении;</li> <li>• при эклампсии и преэклампсии, HELLP-синдроме;</li> <li>• при экстракорпоральном кровообращении;</li> <li>• при интенсивной трансфузионной терапии;</li> <li>• при пароксизмальной ночной гемоглобинурии;</li> <li>• при иммунных формах патологии (системная красная волчанка и др. коллагенозах, антифосфолипидном синдроме, иммунной тромбоцитопенической пурпуре);</li> <li>• псевдотромбоцитопения в случае использования в качестве стабилизатора при получении крови ЭДТА<sup>1</sup>.</li> </ul>



Метод исследования	Изменение показателя	Возможные причины
	Повышение числа	<ul style="list-style-type: none"> <li>• при первичном тромбоцитозе вследствие дефекта гемопоэтических стволовых клеток (часто в сочетании с одним из миелопролиферативных заболеваний);</li> <li>• при вторичном, реактивном тромбоцитозе в случае спленэктомии (через 1-3 недели), внутриполостных гематомах после оперативных вмешательств, спустя 7-10 дней от начала подострого токсико-инфекционного ДВС-синдрома, после перенесенного острого кровотечения, при злокачественных новообразованиях (предвестник, опухоли легких, поджелудочной железы, болезнь Ходжкина).</li> </ul>
АПТВ (норма 30-40 сек)	Укорочение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• в случае активации внутреннего механизма свертывания при тромбозах, тромбоэмболиях, ДВС-синдроме (гиперкоагуляционная фаза);</li> <li>• возможно при нормально протекающей беременности.</li> </ul>
	Удлинение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• при дефиците факторов внутреннего пути свертывания (VIII, XI, IX, VIII) – при нормальных результатах протромбинового теста;</li> <li>• встречается при гемофилии А (низкий фактор VIII) и гемофилии В (снижение фактора IX), реже при гемофилии С (снижение фактора IX) и дефиците фактора XII;</li> <li>• при дефиците фактора Виллебранда;</li> <li>• при гепаринотерапии обычным, нефракционированным гепарином (тест выявляет сравнительно низкие концентрации антикоагулянта, приблизительно от 0,05 МЕ/мл крови);</li> <li>• при лечении непрямыми антикоагулянтами.</li> <li>• при ДВС-синдроме (потребление факторов свертывания в фазу гипокоагуляции);</li> <li>• при синдроме массивных гемотрансфузий, на фоне переливаний реополиглобулина, препаратов гидроксизилкрахмала (инфукол, волекам, HES)<sup>2</sup>;</li> <li>• при наличии волчаночного антикоагулянта;</li> <li>• в случае дефектов при получении крови для исследования (гемолиз, передозировка цитрата натрия).</li> </ul>

Метод исследования	Изменение показателя	Возможные причины
Протромбиновое время (норма 12-16 сек, более узкий диапазон маркируется производителем) <sup>3</sup>	Укорочение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• в случае активации внешнего механизма свертывания при различных видах внутрисосудистого свертывания крови;</li> <li>• при лечении концентратами факторов протромбинового комплекса («Фейба», «Новосевен» и др.).</li> </ul>
	Удлинение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• при дефиците или аномалии факторов протромбинового комплекса (VII, X, V, II) в случаях приема непрямых антикоагулянтов (варфарин, фенилин, пелентан и др.);</li> <li>• при болезнях печени и желчного пузыря (гепатит, цирроз, нарушение эвакуации желчи);</li> <li>• в результате наличия гепарина в крови при гепаринотерапии обычным гепарином (тест реагирует лишь на сравнительно высокие концентрации антикоагулянта, примерно от 0,5 МЕ/мл крови и выше);</li> <li>• при ДВС-синдроме (потребление факторов свертывания в фазу гипокоагуляции);</li> <li>• в синдроме массивных гемотрансфузий, на фоне переливаний реополиглюкина;</li> <li>• возможно при наличии волчаночного антикоагулянта;</li> <li>• при дефектах в процессе получения крови для исследования (гемолиз, передозировка цитрата натрия).</li> </ul>
Тромбиновое время (норма 14-17 сек)	Укорочение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• при гиперфибриногемии (фибриноген 6,0 г и выше);</li> <li>• в начальной, гиперкоагуляционной фазе острого и подострого ДВС-синдрома.</li> </ul>
	Удлинение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• при гепаринотерапии обычным гепарином (тест выявляет сравнительно низкие концентрации антикоагулянта, приблизительно от 0,05 МЕ/мл крови);</li> <li>• при гипофибриногемии (фибриноген ниже 1,0 г/л) в случаях развития острого ДВС-синдрома или назначении тромболитической терапии (стрептокиназа, актилизе и др.). В последнем случае дополнительно имеет место тормозящее влияние продуктов деградации фибриногена и фибрина (фрагментов D и D-димера) на конечный этап свертывания крови;</li> <li>• при влиянии других ингибиторов полимеризации фибрин-мономера (парапротеины, миеломные белки и др.);</li> <li>• при дефектах в процессе получения крови для исследования (гемолиз, передозировка цитрата натрия).</li> </ul>

Метод исследования	Изменение показателя	Возможные причины
Концентрация фибриногена в плазме (норма 2,0-4,0 г/л)	Снижение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• при остром ДВС-синдроме;</li> <li>• при дисфибриногемиях.</li> </ul>
	Повышение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• в случае инфекционных и воспалительных процессов;</li> <li>• при подостром и хроническом ДВС-синдроме;</li> <li>• при нормально протекающей беременности.</li> </ul>
Уровень растворимого фибрина в плазме (норма по орто-фенантролиновому тесту до 4,0 мг/100 мл.	Повышение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• при активации внутрисосудистого свертывания крови (тромбозы, тромбоэмболии, ДВС-синдром);</li> <li>• при физическом и психологическом стрессе;</li> <li>• при нормально протекающей беременности<sup>4</sup>;</li> <li>• в период новорожденности.</li> </ul>

**Примечание:**

- <sup>1</sup> – при наличии больших агрегатов тромбоцитов (обусловленных контактом тромбоцитов с ЭДТА), дающих ошибочный подсчет кровяных пластинок на счетчиках клеток крови, необходима оценка мазка периферической крови.
- <sup>2</sup> – после окончания инфузионной терапии выжидают не менее 1 часа до взятия крови на исследование.
- <sup>3</sup> – оптимальным является выражение результатов протромбинового теста в секундах (с указанием контрольных значений), либо в единицах международного нормализованного отношения – МНО, вычисляемого по формуле:  

$$МНО = (ПВ \text{ больного} / ПВ \text{ контрольной нормальной плазмы})^{МИЧ}$$
где МИЧ – международный индекс чувствительности тромбопластина.
- <sup>4</sup> – при беременности норма по показателям данного теста до 10 мг% в I и II триместрах и до 12 мг% в III триместре.

**Второй принцип.** Важным представляется отход от представления о достаточности определения отдельных тенденций коагулограммы – выявления гипер- или гипокоагуляционного сдвига, снижения или повышения фибриногена, тромбинемии и других изменений, которые невозможно интерпретировать однозначно (см. выше – *возможные причины отклонения «глобальных» тестов*). В дополнение этому, представляется целесообразным применение на основе имеющихся клинических предпосылок алгоритмов диагностики, опираясь на которые используется тот или иной минимально необходимый набор лабораторных тестов [3,4, 6-8,11,16,18,23,30,32,33,37,39,43,45,47,53,62,63,67,71,79,89,92,99].

К их числу можно отнести схемы лабораторного обследования и соответствующие алгоритмы для:

- 1.Определения природы кровоточивости;
- 2.Отбора больных группы риска для профилактики кровотечений в послеоперационном (послеродовом) периоде;
- 3.Распознавания причин склонности к тромбофилии;
- 4.Отбора больных группы риска для профилактики тромбоэмболий в послеоперационном (послеродовом) периоде;
- 5.Диагностики и оценки степени тяжести ДВС-синдрома;

6. Контроля за лечением прямыми и непрямыми антикоагулянтами, антиагрегантами, фибринолитиками, а также препаратами заместительной терапии компонентами крови.

Ниже приведен ряд наиболее часто применяемых схем диагностики и ориентировочные клинико-лабораторные критерии выявления нарушений. Первая из них предназначена для объяснения причин геморрагического синдрома (табл. 3).

Таблица 3.

### Ориентировочная схема обследования при определении причин кровоточивости

Основные методы: *	Патология
Время кровотечения по Айви	более 10-12 мин
Количество тромбоцитов в крови	менее $80-100 \times 10^9/\text{л}$
Оценка функции тромбоцитов на агрегометре с использованием таких индукторов, как АДФ, адреналин и коллаген	Снижение адгезивно-агрегационных характеристик тромбоцитов от нормальных величин
АПТВ	гипокоагуляция
Протромбиновый тест	гипокоагуляция
Концентрация фибриногена	менее 1,0 г/л

### Дополнительные, в случае наличия увеличения времени кровотечения и гипокоагуляции по АПТВ:

Фактор Виллебранда	менее 55% активности
Факторы VIII и IX	менее 40% активности

**Примечание:** \* – описание методов исследования указанных в этой и других схемах исследования приведено в ряде современных руководств, в т.ч. с участием автора этой работы [24,30].

Важную информацию могут дать также имеющиеся в литературе данные [30] о степени изолированного дефицита того или иного фактора свертывания крови, способной привести к геморрагическому синдрому (табл. 4)

Таблица 4.

### Критический уровень факторов свертывания, вызывающий кровотечение

Фактор свертывания	Нормальный уровень	Минимальная активность для гемостаза	Показания тестов			
			ВК	ПТ	АПТВ	ТВ
Ф. Виллебранда	50-160%	> 10%	↑	N	N или ↑	N
Фибриноген	2-4 г/л	0,4-0,5 г/л <sup>1</sup>	N или ↑	N или ↑	N или ↑	↑
II	70-120%	20-30%	N	↑	↑	N
V	70-120%	10-15%	N	↑	↑	N
VII	70-130%	10-15%	N	↑	N	N
VIII	60-150%	> 10%	N	N	↑	N
IX	60-140%	> 10%	N	N	↑	N
X	70-120%	10-15%	N	↑	↑	N
XI	60-150%	30%	N	N	↑	N
XII	60-140%	?	N	N	↑	N
XIII	60-140%	1-5%	N	N	N	N

**Примечание:** ВК – время кровотечения, ПТ – протромбиновый тест, АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время, ТВ – тромбиновое время, N – нормальный показатель теста, ↑ – удлинение времени свертывания в данном методе исследования.

<sup>1</sup> – при дисфибриногемии, сопровождающейся снижением уровня фибриногена, а также при дефиците фактора XII возможно развитие тромбозов.

Вероятнее всего кровоточивость проявляется при сочетании или комбинации отдельных нарушений гемостаза, которые потенцируя друг друга способствуют развитию геморрагического синдрома. Например, гипофибриногемия крайне редко сама по себе вызывает кровотечение, но в сочетании с тромбоцитопенией/тромбоцитопатией, либо дефицитом другого (других) факторов свертывания, провоцирует геморрагический синдром. Такая ситуация может возникнуть при лечении тромболитиками. То же касается и оценки значимости тромбоцитопении различной степени выраженности. Для нормального тромбоцитарного гемостаза, как известно, достаточно содержания в крови  $10-20 \times 10^9/\text{л}$  этих клеток при условии, что они функционально активны и нет острой травмы (операции, родов и др.). Как правило, геморрагический синдром возникает при сочетании как количественного, так и качественного дефекта кровяных пластинок, что характерно, в частности, для ДВС-синдрома, когда при уровне кровяных пластинок уже ниже  $100 \times 10^9/\text{л}$  высока вероятность развития спонтанных кровотечений [10,79].

По-видимому, в этом кроется и возможная причина разной выраженности и частоты возникновения гематом у больных гемофилией при дефиците факторов VIII или IX в случае наличия или отсутствия сопутствующего снижения функции тромбоцитов, дисфибриногемии и др. факторов, способствующих кровоточивости. То же может отнесено и к комплексному (и относительно умеренному по каждому в отдельности) дефициту факторов протромбинового комплекса, способному вызвать кровотечение при передозировке не прямых антикоагулянтов – ингибиторов витамина K.

При наличии геморрагического синдрома выбрать правильную тактику исследования и помочь в интерпретации результатов может помочь клиническая характеристика и знание возможных причин кровоточивости описанных в трудах З.С.Баркагана [3,6,8] – см. табл. 5 и приложение 2.

Таблица 5.

### Классификация основных типов кровоточивости

Типы кровоточивости	Основные виды патологии
1. Микроциркуляторный (петехиально-пятнистый или синячковый)	Тромбоцитопении, тромбоцитопатии, легкая степень болезни Виллебранда
2. Гематомный	Гемофилии А и В
3. Смешанный (микроциркуляторно-гематомный)	ДВС-синдром (в стадии клинической манифестации), тяжелая степень болезни Виллебранда, при передозировке прямых или не прямых антикоагулянтов, антиагрегантов, избыточной тромболитической терапии
4. Васкулитно-пурпурный	Микротромбоваскулиты
5. Ангиоматозный	Телеангиоэктазия, микроангиоматоз

Очевидно, что учет особенностей геморрагического анамнеза и проявлений у наблюдаемого пациента в совокупности с данными первичного (скринингового) исследования гемостаза – *см. табл. 2*, может послужить ключом для первичной дифференцировки наиболее частых геморрагических заболеваний и синдромов. В большинстве случаев диагноз может быть подтвержден серией дополнительных исследований (*табл. 3*).

При тромбоцитопениях, тяжелых тромбоцитопатиях и при дефиците фактора Виллебранда время кровотечения резко удлиняется. Связана эта кровоточивость с недостаточностью адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов – нарушением образования в поврежденных сосудах тромбоцитарной пробки. Это может быть обусловлено либо значительным снижением количества тромбоцитов в крови, либо их дисфункцией, в основе которой чаще всего лежат отсутствие или блокада на мембране тромбоцитов рецепторов, взаимодействующих со стимуляторами (агонистами) агрегации этих клеток – фактором Виллебранда (рецепторы  $Ib$ ), адреналином, АДФ, фибриногеном, арахидоновой кислотой и простагландинами (рецепторы  $Ib\alpha/IIa$ ), либо отсутствие в тромбоцитах или нарушение выхода из них (т. е. реакции освобождения) компонентов гранул, содержащих эти стимуляторы агрегации.

Нарушение агрегации тромбоцитов может быть связано и с рядом лекарственных воздействий, одни из которых (аспирин) блокируют образование в тромбоцитах мощных циклических простагландиновых стимуляторов агрегации, в частности тромбксана  $A_2$ , другие блокируют АДФ-рецепторы (тиенопиридины), третьи – нарушают транспорт в тромбоциты ионов кальция либо стимулируют образование циклического аденозинмонофосфата (цАМФ).

Соответственно качественные дефекты тромбоцитов, лежащие в основе большого числа геморрагических диатезов, подразделяются на следующие группы [8]:

- дизагрегационные тромбоцитопатии, обусловленные отсутствием или блокадой мембранных рецепторов этих клеток (тромбастения Гланцмана и др.);
- болезни отсутствия плотных и альфа-гранул;
- нарушения высвобождения гранул;
- нарушения образования циклических простагландинов и тромбксана  $A_2$ ;
- дефицит, аномалии и нарушения мультимерности фактора Виллебранда;
- нарушения обмена нуклеотидов и транспорта кальция.

Исследование различных видов агрегации тромбоцитов (агрегатометрия), изучение их ультраструктуры (определение наличия плотных и  $\alpha$ -гранул), определение структуры и функции основных рецепторов этих клеток и фактора Виллебранда позволяет уточнить природу тромбоцитопатии и причину кровоточивости у обследуемого больного.

Следующая схема может иметь практическое значение для отбора пациентов (скрининг), потенциально опасных по развитию геморрагического синдрома в послеоперационном (послеродовом) периоде (*табл. 6*).

Таблица 6.

### Ориентировочная схема обследования для отбора больных группы риска для профилактики кровотечений в послеоперационном периоде

Методы:	Патология
Время кровотечения по Айви	более 10-12 мин
Количество тромбоцитов в крови	менее $80-100 \times 10^9/\text{л}$
АПТВ	гипокоагуляция
Протромбиновый тест	гипокоагуляция
Концентрация фибриногена	1,0 г/л и менее

Прием аспирина и нестероидных противовоспалительных препаратов может увеличивать время кровотечения и снижать функцию тромбоцитов. Причем аспирин для снижения риска кровоточивости должен отменяться за 1 неделю до оперативного вмешательства или плановых родов. Если прием антиагрегантов исключен до данным опроса, при увеличенном времени кровотечения рекомендуется исследование уровня фактора Виллебранда (в этом случае по АПТВ также, как правило, фиксируется гипокоагуляция). В случае удлинения только результатов АПТВ необходимо измерение уровня факторов VIII, IX и XI, а также их ингибиторов. Гипокоагуляция только по протромбиновому тесту может быть связана с изолированным дефицитом фактора VII. При одновременном удлинении в протромбиновом тесте и АПТВ при нормальном уровне фибриногена и тромбиновом времени в пределах нормы (табл. 7) необходимо измерение уровня факторов II, V и X (дефицит которых может наблюдаться при заболеваниях печени, ДВС-синдроме, приеме не прямых антикоагулянтов).

Таблица 7.

### Дифференциация дефицита факторов протромбинового комплекса

Лабораторные тесты	Показания при дефиците факторов			
	VII	X	V	II
Протромбиновый	Н	Н	Н	ЧН
АПТВ	норма	ЧН	ЧН	ЧН
Протромбиновый при добавлении:				
а) старой нормальной сыворотки	норма	норма	Н	Н
б) $\text{BaSO}_4$ -плазмы	Н	Н	норма	Н
Тест с ядом гюрзы	норма	Н	Н	Н
Тест с ядом эфы	норма	норма	норма	Н

**Примечание:** Н – нарушено; ЧН – часто нарушено.

### Дифференциация дефицита факторов VIII, IX и XI

Данная методика выполняется в тех случаях, когда в плазме больного определяется хорошо выраженное удлинение АПТВ (не обусловленное гепарином) при нормальном протромбиновом времени. Определяется способность нормальной плазмы, адсорбированной сульфатом бария (дефицитная по фактору IX)

и нормальной сыворотки сроком хранения более 24 ч (дефицитная по фактору VIII), полученных от здоровых людей, исправлять показания АПТВ (30).

Готовят 3 пробирки. В первую вносят 0,05 мл цитратной, бедной тромбоцитами плазмы больного, во вторую – 0,05 мл  $\text{BaSO}_4$ -плазмы и в третью – 0,05 мл сыворотки крови.

В каждую из пробирок добавляют по 0,05 мл плазмы больного. Далее, во всех трех смесях (трех пробирках) определяют АПТВ.

В первой пробирке АПТВ, определенное в плазме больного, должно превышать контрольные значения теста. Если АПТВ нормализуется только во 2-й пробирке, в которую с  $\text{BaSO}_4$ -плазмой вводят в достаточном количестве фактор VIII, то у больного диагностируется гемофилия А (дефицит фактора VIII). Если нормализации свертывания нет во 2-й пробирке, но есть в 3-й, куда добавлена нормальная сыворотка, содержащая IX фактор, то предполагается наличие гемофилии В (дефицит фактора IX). При гемофилии С (дефиците фактора XI), что бывает гораздо реже, нормализация должна произойти как во 2-й, так и в 3-й пробирке, поскольку XI фактор содержится и в  $\text{BaSO}_4$ -плазме и в нормальной старой сыворотке.

Методика носит качественный характер и позволяет сориентироваться лишь в варианте имеющейся гемофилии. Для оценки степени тяжести гемофилии выполняют количественное определение дефицита фактора VIII или IX.

Актуальное значение имеет распознавание причин тромбофилий, под которой понимаются все нарушения в системе гемостаза, которым свойственна повышенная склонность к раннему появлению и рецидивированию тромбозов и облитераций кровеносных сосудов, ишемиям и инфарктам органов. Для каждого из видов тромбофилий характерны определенные маркерные нарушения в тех или иных звеньях системы гемостаза, хотя во многих случаях выявляются комбинированные формы этой патологии, многие из которых отличаются особенно выраженной склонностью к тромбообразованию и облитерации кровеносных сосудов. Эти тромбофилии требуют длительной, иногда пожизненной профилактики тромбоэмболического синдрома [18,19,25,26,27,33,38,54,65,66,85,86,88,90].

Согласно современной отечественной классификации [18,19,25], утвержденной Пленумом президиума РАМН в 1996 г. выделяют генетически обусловленные (первичные) и приобретенные (вторичные) формы этой патологии (*приложение 3*). Приводимая ниже схема (*табл. 8*) позволяет, в большинстве случаев, выявить причину нарушений.

*Таблица 8.*

### **Ориентировочная схема обследования для распознавания первичных и вторичных тромбофилий**

<b>Методы:</b>	<b>Патология</b>
Определение числа эритроцитов в крови	Более $5,0 \times 10^{12}/\text{л}$ , с повышением уровня гемоглобина (полиглобулия)
Реакция оседания эритроцитов	1-3 мм/ч
Количество тромбоцитов в крови	более $500 \times 10^9/\text{л}$
Оценка функции тромбоцитов на агрегометре с использованием таких индукторов, как АДФ, адреналин и коллаген*	повышение адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов от нормальных величин



<b>Методы</b>	<b>Патология</b>
АПТВ	гиперкоагуляция**
Тромбиновое время	гипокоагуляция при дисфибриногенемиях; влияет гепарин
Рептилазное время (аналог – анцистроновое время)	гипокоагуляция при дисфибриногенемиях; гепарин не влияет
Концентрация фибриногена	свыше 6,0 г/л
Активность фактора VIII	свыше 150%
Уровень растворимого фибрина в плазме***	свыше 10 мг% (носит вспомогательное значение для этой схемы, поскольку отражает лишь наличие тромбинемии)
Активность антитромбина III (резистентность к гепарину)	менее 70%
Нарушения в системе протеина С (Глобал-тест, Парус-тест)	НО менее 0,8****
Антифосфолипидный синдром с циркуляцией в крови волчаночного антикоагулянта (ВА)	наличие в плазме крови ВА, высокий уровень антикардиолипидных антител, наличие антител к $\beta_2$ -гликопротеину 1, аннексину V и протромбину
Уровень гомоцистеина в крови (57, 91, 97)	по данным иммуноферментного анализа – свыше 10 мкг/мл
Нарушения фибринолиза	снижение плазминогена и его активаторов (ТПА), повышение уровня ингибитора активатора плазминогена (PAI I)
ПЦР-диагностика генетических дефектов, способных вызвать тромбозы (55, 66, 85, 86, 88)	наличие мутации Лейден (резистентность фактора Va к активированному протеину C), протромбина G 20210A или метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР)

**Примечание:** \* – высокой информативностью обладает также морфо-функциональный метод определения внутрисосудистой активации тромбоцитов, предложенный А.С. Шитиковой [94].

\*\* – кроме гипокоагуляционных форм тромбофилии (антифосфолипидный синдром, дефицит фактора XII, варианты дисфибриногенемий), когда наблюдается удлинение показаний теста.

\*\*\* – по результатам орто-фенантролинового теста.

\*\*\*\* – при наличии отклонения определяются активность протеинов С и S (в коагуляционном тесте или с использованием хромогенных субстратов) и их антигены.

Ориентировочные представления о встречаемости мутаций при тромбозах различной локализации могут быть получены из недавней публикации Н.Б.Салтыковой и В.Д.Каргина [90] – см. табл. 9.

Таблица 9.

**Частота встречаемости наследственной тромбофилии у больных с тромбозами**

Патология	Фактор V Лейден, %	Протромбин G 20210, %	МТГФР C677T, %	Отсутствие исследуемых генетических маркеров, %
Венозный тромбоз (n=151)	21,9	5,3	35,8	37,0
Артериальный тромбоз (n=82)	3,7	1,2	43,9	51,2
Здоровые лица (n=93)	3,2	2,2	36,6	-

Эффективность лабораторной диагностики тромбофилий повышается в острый период тромбоза, но назначение противотромботических средств затрудняет эту задачу. Диагностическое обследование больного, в частности, при оценке (по клоттинговым тестам) нарушений в системе протеина С или при определении волчаночного антикоагулянта, получающего непрямые антикоагулянты, допускается спустя 2-3 недели после отмены препарата. В то же время при гепаринотерапии, кровь на анализ может быть взята непосредственно перед введением очередной дозы обычного или низкомолекулярного гепарина.

В диагностике врожденных форм тромбофилии помогают следующие клинические ориентиры [27,61,66]:

1. Развитие первичного тромботического эпизода в возрасте до 40 лет.
2. Идиопатический или спонтанный тромбоз (с исключением антифосфолипидного синдрома, злокачественного новообразования, миелопролиферативных заболеваний и признаков других приобретенных тромбофилий).
3. Рецидив тромбоза.
4. Нетипичная локализация тромба (например, в мезентериальных, почечных, церебральных венах).
5. Наличие семейного тромботического анамнеза.
6. Отсутствие клинических факторов риска развития тромбоза (онкологические заболевания, оперативные вмешательства и др.).
7. Неэффективность гепаринотерапии – возможен дефицит антитромбина III.<sup>1</sup>
8. Появление кожных «варфариновых» некрозов при лечении непрямыми антикоагулянтами – антагонистами витамина К (подозрение на дефицит протеина С).

Остановимся на одной из наиболее частой приобретенной форме тромбофилии – антифосфолипидном синдроме (АФС). Этот синдром известен как аутоиммунный процесс, в основе которого лежит образование в организме в высоком титре бимодальных аутоантител, взаимодействующих с отрицательно заряженными мембранными фосфолипидами (МФ) и связанными с ними гликопротеинами. Из МФ основными мишенями антифосфолипидных антител (АФА) являются несущие отрицательный заряд кардиолипин, фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин

<sup>1</sup> – при длительной или массивной гепаринотерапии, ДВС-синдроме, приеме гормональных контра-цептивов активность антитромбина III может снижаться

и фосфатидиловая кислота, а из белковых компонентов –  $\beta_2$ -гликопротеин-1, аннексин V и протромбин (фактор II). Большинство длительно действующих АФА принадлежит к классам Ig G и Ig M. Они блокируют фосфолипидно-белковые комплексы как свободных липидных везикул плазмы крови, так и лабильных клеточных мембран эндотелия, тромбоцитов и других клеток. Это проявляется, с одной стороны, снижением тромборезистентности эндотелия и активацией тромбоцитарного гемостаза, а с другой – дисбалансом в системе коагуляционного гемостаза [98,109]. Последний характеризуется развитием тромбофилического статуса *in vivo*, при котором активация факторов Va, Ха и протромбина сочетается с депрессией противосвертывающих механизмов, в частности, в системах протеина C, тромбомодулина и фибринолиза. Данные нарушения характеризуются *in vitro* развитием гипокоагуляции в так называемых «фосфолипид-зависимых» тестах. Эта гипокоагуляция выявляется комплексом специальных лабораторных методик и обозначается как эффекты АФА, обладающих свойствами волчаночных антикоагулянтов (ВА). В связи с этим АФС в современных классификациях включается в число аутоиммунных гематогенных тромбофилий и обозначается как одна из их гипокоагуляционных форм [18,19,25,27,33,96].

Антифосфолипидный синдром, как известно, верифицируется на основании характерных клинических проявлений, результатов иммунных определений и выявления эффектов волчаночного антикоагулянта [33,66,87], см также приложение 4.

В соответствии с рекомендациями комитета по стандартизации Международного общества по тромбозу и гемостазу (2002) для определения ВА используется трехэтапная схема диагностики, включающая следующие определения [99]:

**Скрининговые, фосфолипид-чувствительные тесты**

1. Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ)
2. Каолиновое время свертывания бедной тромбоцитами плазмы
3. Тест с разведенным ядом гадюки Рассела (со скрининговым реагентом)
4. Тест ингибирования разведенного тканевого тромбопластина

**В. Тест на смешивание плазмы больного с контрольной нормальной плазмой для исключения дефицита факторов свертывания (при наличии гипокоагуляции)**

1. АПТВ

**С. Тесты коррекции имеющейся гипокоагуляции фосфолипидами**

*Для исключения действия других иммунных ингибиторов к факторам свертывания (высокая концентрация фосфолипидов в тест-системе)*

1. Лизат тромбоцитов
2. Микровезикулы, полученные из тромбоцитов
3. Фосфолипидные липосомы
4. Гексагональные фосфолипиды

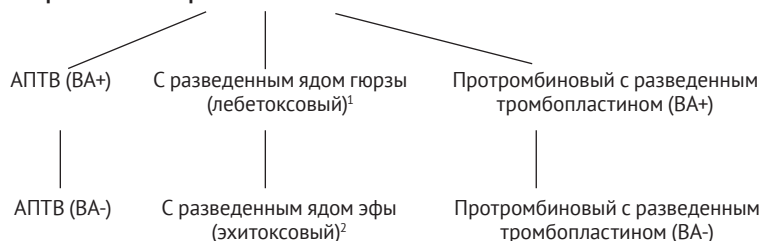
**Подтверждающие тесты на ВА (низкая концентрация фосфолипидов в тест-системе)**

1. Тест с разведенным ядом гадюки Рассела (со специальным реагентом)
2. Тест нейтрализации тромбоцитами
3. Тест с гексагональными фосфолипидами.

Купирование гипокоагуляции в последней группе подтверждающих тестов диагностически значимо для верификации ВА в тех случаях, когда определяется как минимум в двух тестах и наблюдается на протяжении 3 недель.

Ниже приводится алгоритм выявления волчаночного антикоагулянта (рис. 1) на основе упрощенной, вновь предложенной в нашем центре схемы, базирующейся на сочетанном применении противовесных тестов [33,79].

### I. Скрининговые и противовесные тесты



### II. Коррекционные (подтверждающие) тесты

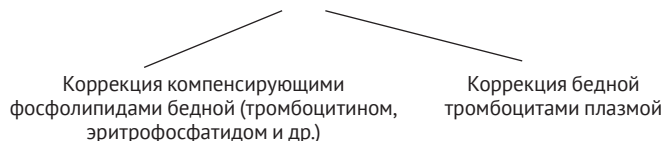


Рис. 1. Алгоритм определения волчаночного антикоагулянта на основе применения противовесных люпус-чувствительных и люпус-нечувствительных тестов.

На I этапе исследований сравнивают результаты тестов, выполненных с реагентами, чувствительными (АПТВ BA+, протромбиновый тест BA+, проба с ядом гюрзы) и малочувствительными (АПТВ BA-, протромбиновый тест BA-, проба с ядом эфы) к действию ВА.

Различие показаний в этих тестах, характерное для присутствия в плазме ВА практически не выявляется при других причинах удлинения гемокоагуляции, в частности, при дефиците факторов свертывания, наличии их ингибиторов и мало значимо при лечении антикоагулянтами (гепаринами и антагонистами витамина К). Вместе с тем, в случае получения положительных результатов на I этапе скрининга возможно выполнение коррекционных (подтверждающих) тестов в тест-системах, использующих BA+ реагенты (II этап). Поле подробное описание данных диагностических подходов, включая иммунодиагностику АФС, можно получить из методических рекомендаций, утвержденных МЗ РФ и недавно изданных [33].

Для снижения риска развития послеоперационных тромбозов, нередко заканчивающихся летальным исходом, при урологических, гинекологических оперативных вмешательствах, операциях на суставах и трубчатых костях, ряде других травматичных вмешательств, важно, помимо учета клинических предпосылок (тромботический анамнез у больного и родственников, данные объективного обследования) проводить лабораторный скрининг по представленной в табл. 10 схеме.

<sup>1</sup> Аналог яда гадюки Расселла

<sup>2</sup> Аналог экарина

Таблица 10.

**Ориентировочная схема обследования для отбора больных группы риска для профилактики тромбозов в послеоперационном периоде**

<b>Методы:</b>	<b>Патология</b>
АПТВ	гиперкоагуляция *
Концентрация фибриногена	свыше 6,0 г/л
Уровень растворимого фибрина в плазме	свыше 10 мг%
Уровень D-димера в плазме (латексная агглютинация) <sup>1</sup>	свыше 500 нг/мл
Активность антитромбина III **	менее 70%
Нарушения в системе протеина С (резистентность фактора Va к активированному протеину С) **	НО менее 0,8
Волчаночный антикоагулянт**	наличие в плазме крови

**Примечание:** \* - возможен гипокоагуляционный сдвиг при наличии волчаночного антикоагулянта или дефицита фактора XII.

\*\* - показатели определяются при наличии в анамнезе больного рецидивирующих или семейных тромбозов.

В соответствии с недавно принятым Российским отраслевым стандартом по профилактике тромбозов легочной артерии при хирургических и иных инвазивных вмешательствах [83] устанавливается следующая градация факторов риска тромбозов у стационарных больных (при наличии более одного фактора риска общий риск возрастает).

**Низкий риск:**

1. Факторы риска, обусловленные операцией: неосложненные вмешательства продолжительностью до 45 минут (аппендэктомия, грыжесечение, роды, аборт, трансуретральная аденомэктомия).
2. Факторы риска, обусловленные состоянием больного: отсутствуют.

**Высокий риск:**

(наличие одного из следующих признаков или любое их сочетание):

**1. Факторы риска, обусловленные операцией:**

- расширенные операции на органах грудной, брюшной полостей и забрюшинного пространства (экстирпация пищевода, гастрэктомия, панкреатэктомия, колэктомия и др.), ортопедические и травматологические операции на крупных суставах и костях, ампутация бедра, эндоваскулярные вмешательства (баллонная дилатация артерий, имплантация стентов в сосуд, эндоваскулярная тромбэктомия и др.);
- планируемая продолжительность операции более 2 часов.

**2. Факторы риска, обусловленные состоянием больного:**

- висцеральные злокачественные новообразования, химиотерапия;
- тромбоз глубоких вен или ТЭЛА в анамнезе, варикозное расширение вен;

<sup>1</sup> Показатель позволяет заподозрить наличие венозного тромбоза, повышающего риск развития тромбозов после оперативного вмешательства

- паралич нижних конечностей, длительная иммобилизация больного;
- гнойная инфекция;
- тромбофилии;
- сахарный диабет;
- ожирение;
- прием эстрогенов;
- послеродовой период менее 6 недель;
- иммобилизация больного более 4 дней до операции;
- возраст старше 45 лет;
- сердечная или легочная недостаточность II и выше стадии.

Учет данных анамнеза и объективного обследования, наряду с планируемой сложностью операции, а также учет тромбофилических сдвигов по данным выше приведенного лабораторного скрининга позволяют выявить группу риска по развитию тромбозов для проведения специфической антитромботической профилактики этого, нередко фатального осложнения.

Отдельная задача ставится клиницистами перед лабораторией при распознавании и контроле за лечением такого спутника многих критических состояний, как синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома). Острый и подострый его варианты при поздней, только клинической его диагностике (по наличию геморрагий, полиорганной недостаточности) сопровождаются до 50% летальности [9,11,13,20,35,37,44,46,52,53,62,63,67].

В то же время своевременная лабораторная диагностика по соответствующим маркерам и адекватная патогенетическая терапия (см. табл. 11-13), включающая трансфузии свежезамороженной плазмы – СЗП (от 800 до 2000 мл/сут), позволяет снизить этот показатель до 10-15% [14,15,17,20,62,67].

Термин «ДВС-синдром» обозначает неспецифический общепатологический процесс, связанный с поступлением в кровоток активаторов свертывания крови и агрегации тромбоцитов, диссеминированным микросвертыванием крови, активацией и истощением плазменных протеолитических систем, потреблением физиологических антикоагулянтов и факторов свертывания крови, образованием в зоне микроциркуляции микросгустков и агрегатов клеток крови, следствием чего является развитие блокады микроциркуляции в органах-мишенях, гипоксии, дистрофии и глубокой дисфункции этих органов. Данные нарушения сопровождаются интоксикацией организма продуктами тканевого распада, вторичной эндогенной бактериемией и развитием тяжелого тромбогеморрагического синдрома [6-10]. Менее четко очерчен хронический ДВС-синдром, при котором длительная волнообразно-текущая фибринация протекает с персистирующей тромбинемией, выраженной дисфункцией органов-мишеней при минимальной и зачастую моноорганной геморрагической симптоматикой, но одновременным возникновением тромбозов магистральных вен.

Частота ДВС-синдрома при различных видах патологии неодинакова. Установлено, что инфекции и септицемия занимают первое место среди причин ДВС-синдрома и на их долю приходится более 50% всех случаев этой патологии. В это число входит большинство ДВС-синдромов при акушерской патологии (осложненные бактериемией аборт и роды, эмболия инфицированными околоплодными водами, преждевременная отслойка плаценты, внутриутробная гибель плода и др.). К частым

причинам ДВС-синдрома относят все виды шока (травматический, геморрагический, ожоговый, кардиогенный и др.). Риск развития ДВС возрастает при травмах и травматичных хирургических вмешательствах, больших кровопотерях, массивных трансфузиях крови, нестабильной гемодинамике. Практически все терминальные состояния и острый внутрисосудистый гемолиз сопровождаются этим синдромом, наличие которого зачастую определяет течение и исход болезни (5, 12, 20, 35). Перечень основных причин острого и подострого ДВС-синдрома и главные звенья его патогенеза приведены в приложении 5.

Диагностика ДВС-синдрома строится прежде всего на ситуационной основе, с выявлением всех возможных условий и видов патологии, в том числе и критических состояний, при которых развитие этого синдрома является закономерным, учета проявлений его клинической манифестации и данных лабораторного обследования больных [12,20,35,42,64].

Все эти три подхода имеют самостоятельное значение и взаимно дополняют друг друга. Так, например, острый ДВС-синдром нередко дебютирует с профузного кровотечения, сопровождается шок любой этиологии, быстро приводит к полиорганной недостаточности, и эти ситуации нуждаются не в лабораторном подтверждении диагноза и неоправданной потере времени, а в скорейшем начале патогенетической терапии. Роль лабораторной диагностики при этом представляется важной и имеет существенное значение для оценки тяжести и эволюции этого процесса, эффективности его терапии по степени потребления основных компонентов системы гемостаза – тромбоцитов, фибриногена, физиологических антикоагулянтов, а также выраженности тромбинемии. Тем не менее, во многих случаях, например, при подостром течении ДВС-синдрома, роль лабораторной диагностики является определяющей, особенно в ситуации, когда клинические его признаки (полиорганная недостаточность, кровоточивость) еще мало выражены или запаздывают (схема обследования – см. табл. 11 и 12).

Таблица 11.

### **Ориентировочная схема обследования для диагностики острого и подострого ДВС-синдрома**

<b>Методы:</b>	<b>Патология</b>
Количество тромбоцитов в крови	Чаше тромбоцитопения
Концентрация фибриногена	Широкий диапазон значений
АПТВ	Фазовые изменения
Протромбиновый тест	Фазовые изменения
Тромбиновое время	Фазовые изменения
Уровень растворимого фибрина (или РФМК) и D-димера в плазме	Повышение
Активность антитромбина III	Менее 70%

При остром ДВС-синдроме фаза начальной гиперкоагуляции очень кратковременна, ее продолжительность часто измеряется лишь минутами, и зачастую не улавливается, поскольку в этой фазе часто вообще не удается получить кровь на анализ из-за тромбирования сосуда, подвергшегося пункции, его запустевания (шок), тромбирования иглы или немедленного образования сгустка в пробирке с набранной кровью, несмотря на смешивание последней с цитратом натрия. Лишь при хроническом ДВС-синдроме эта фаза гиперкоагуляции может длиться часами и днями, сочетаться с тромбозами магистральных вен. В последующем в коагулограмме доминируют, как известно, тромбоцитопения, депрессия физиологических антикоагулянтов и коагулопатия потребления с разнонаправленными сдвигами коагуляционных тестов, нарастанием в крови

тромбинемии, РФМК и D-димера (признаки интенсивности свертывания крови и фибринолиза), а затем – развитием выраженной гипокоагуляции, вплоть до полной несвертываемости крови, отсутствием сгустков в крови, вытекающей из матки, кишечника, носа и ран.

Ниже, в табл. 12 приводятся оригинальные данные, полученные в 2002-2003 годах в ЦНИЛ Алтайского государственного медицинского университета при обследовании больных с острым и подострым ДВС- синдромом (акушерским, септическим, послеоперационным и др.) в период, предшествующий началу антикоагулянтной терапии и трансфузиям свежезамороженной плазмы.

Таблица 12.

### Частота нарушений в системе гемостаза у больных с острым и подострым ДВС-синдромом

Методы исследования и выявленные сдвиги	Число больных, абс. (%)
АПТВ	
- нормальные показатели	84 (82,1%)
- гипокоагуляция	12 (12,5%)
- гиперкоагуляция	6 (5,4%)
Протромбиновое время	
- нормальные показатели	82 (80,1%)
- гипокоагуляция	9 (8,7%)
- гиперкоагуляция	11 (11,2%)
Тромбиновое время	
- нормальные показатели	78 (76,1%)
- гипокоагуляция	12 (11,8%)
- гиперкоагуляция	12 (11,8%)
Количество тромбоцитов в крови	
- нормальные показатели	22 (21,6%)
- ниже нормы	79 (77,5%)
- выше нормы	1 (0,9%)
Концентрация фибриногена (по Клауссу)	
- нормальные показатели	33 (32,6%)
- гипофибриногенемия	6 (5,8%)
- гиперфибриногенемия	63 (61,6%)
Уровень растворимого фибрина в плазме (по орто-фенантролиновому тесту)	
- нормальные показатели	12 (11,7%)
- выше нормы	90 (88,3%)
Уровень D-димера в плазме	
- нормальные показатели	19 (18,6%)
- выше нормы	83 (81,4%)
Активность АТ III (амидолитически)	
- нормальные показатели	13 (12,9%)
- ниже нормы	89 (87,1%)
- выше нормы	0 (0%)
Нарушения в системе протеина С в Глобал-тесте, НО	
- нормальные показатели	29 (28,4%)
- ниже нормы	73 (71,6%)
- выше нормы	0 (0%)
Уровень плазминогена (амидолитически)	
- нормальные показатели	20 (19,6%)
- ниже нормы	82 (80,4%)
- выше нормы	0 (0%)



Эти результаты лишний раз свидетельствуют, что преобладающее значение в лабораторной диагностике ДВС-синдрома принадлежит не выявлению гипер- или гипокоагуляционного сдвига и гипофибриногенемии (которая характерна лишь для молниеносных форм патологии и терминальной фазы глубокой несвертываемости крови), а выявлению тромбоцитопении, высокого уровня маркеров тромбинемии (растворимого фибрина и D-димера) и, что важно, потребления физиологических антикоагулянтов, степень снижения которых наряду с глубиной тромбоцитопении и выраженностью клинических проявлений отражает тяжесть ДВС-синдрома [20,30,35,64,70].

При распознавании и мониторинговании острых и подострых ДВС-синдромах всегда следует учитывать возможное влияние на результаты исследований гепаринемии (при анализе крови, полученной посредством катетера или при терапии гепарином), гемодилюции, наблюдающейся при массивной инфузионной терапии, гиперцитратемии и ряда плазмозаменителей, особенно реополиглюкина. Значительный гипокоагуляционный сдвиг и ложная гипофибриногенемия (особенно при определении концентрации фибриногена гравиметрическим методом) могут быть временными и связанными с перечисленными выше лекарственными воздействиями. Возможное присутствие гепарина в исследуемом образце плазмы может быть доказано при ее обработке «*in vitro*» сорбентом гепарина, причем исходно удлинённый показатель (до сорбции), например, по АПТВ, в случае гепаринемии существенно укоротиться.

Оценка эффективности терапии ДВС-синдрома проводится по изменению состояния больного (купирование геморрагического синдрома, обратное развитие органных нарушений) и положительной динамике показателей таких тестов, как активность АТ III, определение маркеров тромбинемии, количество тромбоцитов в крови и концентрация фибриногена. Для иллюстрации последнего положения мы провели соответствующий анализ отдельно по группам выживших (n=83) и умерших (n=19) больных с острым и подострым ДВС-синдромом. Данные этого сравнительного исследования представлены в таблице 13.

Таблица 13.

**Динамика активности АТ III, системы протеина С, уровня плазминогена и D-димера у больных с ДВС-синдромом при различных исходах**

Методы исследования	Этапы обследования		P <sub>1-2</sub>
	до начала трансфузий СЗП (1)	через 6-9 дней от начала лечения (2)	
При благоприятном исходе (А)			
АТ III,%	61,0±2,9***	92,7±2,6*	<0,001
Нарушения в системе протеина С, НО	0,63±0,02***	0,80±0,02***	<0,001
Плазминоген, %	56,4±2,0***	83,6±4,2***	<0,001
D-димер, нг/мл	990,0±151,5***	400,0±66,9*	<0,001
При летальном исходе (Б)			
АТ III,%	58,1±3,6***	66,3±5,0***	<0,2
P <sub>А-Б</sub>	>0,5	<0,001	
Нарушения в системе протеина С, НО	0,60±0,03***	0,61±0,03***	>0,5

Методы исследования	Этапы обследования		P <sub>1-2</sub>
P <sub>A-B</sub>	>0,5	<0,001	
Плазминоген, %	48,5±4,0***	53,0±5,9***	<0,5
P <sub>A-B</sub>	<0,1	<0,001	
D-димер, нг/мл	1750,0±125,0***	715,0±75,0***	<0,001
P <sub>A-B</sub>	<0,001	<0,01	

**Примечание:** Достоверность различий по сравнению с контролем: \* – P<0,05; \*\* – P<0,01; \*\*\* – P<0,001.

Как видно из таблицы, активность АТ III, компонентов системы протеина С и уровень плазминогена до начала лечения у выживших и умерших больных была сходной и характеризовалась значительным снижением этих показателей от нормальных значений. После проведения комплексной терапии у больных с благоприятным исходом произошла положительная коррекция этих показателей. Уровень D-димера при этом достоверно снизился в 2,5 раза. Напротив, у умерших больных, оставались низкими как активность физиологических антикоагулянтов, так и уровень плазминогена, тогда как содержание D-димера в плазме снизилось в 2,4 раза, т.е. в той же мере, что и у выживших больных, что, очевидно связано с недостаточным восстановлением (деблокадой) микроциркуляции в органах-мишенях.

Прежде чем остановиться на следующей схеме диагностики (табл. 14) отметим, что 35-40% людей в популяции имеет низкую чувствительность тромбоцитов к действию аспирина [21,59,106].

Причина такого явления открылась в последние годы, когда было определено, что основной механизм антиагрегантного действия ацетилсалициловой кислоты сводится к ее способности ацетилировать и блокировать действие циклооксигеназы и мембранных рецепторов тромбоцитов, в связи с чем нарушается арахидоновый путь агрегации этих клеток, связанный с образованием простагландинов и тромбосана A<sub>2</sub> [95,106,111]. У указанного выше числа больных этот механизм не срабатывает, так как аспирин блокирует лишь один изофермент – циклооксигеназу-1, следовательно, у больных с преобладанием циклооксигеназы-2 действие аспирина отсутствует или слабо выражено. Между тем аспирин в качестве антиагреганта в течение многих лет широко используется при нестабильной стенокардии, аортокоронарном шунтировании, в процессе лечения больных перенесших острый инфаркт миокарда. Метод профилактики ишемической болезни сердца путем приема минидоз аспирина рекомендован к применению у лиц обоего пола, начиная с 35-40 лет. Из этого следует необходимость обязательного контроля за функцией тромбоцитов в процессе приема аспирина у кардиологических больных, и целесообразность использования для этой цели антиагрегантов, более широко ингибирующих тромбоциты. К таким препаратам относятся тиклопидин и новый более активный и не влияющий на кроветворение препарат – клопидогрель (плавикс). Классификация современных антиагрегантов приведена в приложении 6 [26,34].

Таблица 14.

**Схема обследования для контроля за лечением антиагрегантами**

<b>Методы:</b>	<b>Действие препаратов*</b>
Оценка агрегации тромбоцитов на агрегометре:	
- АДФ-агрегация	преимущественное подавление агрегации под действием ингибиторов рецептора lib-IIIa – препараты: тиклид, плавикс.
- Адреналин-агрегация	преимущественное ингибирование агрегации под влиянием аспирина и его аналогов (кардиомагнил, тромбоас).

**Примечание:** \* - критерий оценки эффективности антиагрегантной терапии – снижение показателей агрегатограммы (процент агрегации) от исходных в 2-4 раза.

Представляется полезным описание методики оценки наличия так называемой аспиринорезистентности (по разработке сотрудника нашего центра к.м.н. Е.Ф.Котовщиковой), наличие которой важно при выборе для лечения средств, снижающих функцию тромбоцитов [58].

**Методика определения аспиринорезистентности:<sup>4</sup>**

1. При наличии высокой спонтанной или индуцированной агрегации тромбоцитов (по данным агрегометрии) больному назначают 250-325 мг аспирина/сутки.
2. Через 2-3 дня и через 5 дней от начала приема аспирина повторяют анализ агрегатограммы, используя в качестве индуктора агрегации адреналин. В случае эффективности аспиринотерапии (снижении интенсивности агрегации в 5-7 раз) дозу аспирина снижают до минимальной (75-160 мг/сут), поддерживающей агрегацию, сниженную от исходной в 3-4 раза.
3. При неэффективности приема аспирина (более слабом подавлении агрегации) назначают тиклопидин (под контролем числа лейкоцитов в крови). Учитывают особенность тиклопидина в том, что он начинает действовать в отличие от аспирина не сразу, а спустя 5-6 дней после начала его приема в дозе 500 мг/сут. В связи с этим, при переводе больного с аспирина на тиклопидин сначала назначают оба препарата, а с 6-7 дня отменяют аспирин и оставляют больного на тиклопидине под контролем агрегатограммы. Более предпочтителен препарат этой группы (ингибиторов АДФ- рецепторов) нового поколения – клопидогрель или плавикс, действующий уже через 2-3 дня от начала приема (в дозе 75 мг/сут) и дающий меньший риск развития агранулоцитоза [59].

Следующая схема обследования (табл. 15) предназначена для мониторинга антикоагулянтной терапии обычным (нефракционированным) гепарином, предусматривающая своевременное выявление возможных осложнений такого лечения [4,24,26,30,33,45,66,73-75,92,108].

В группе гепаринов выделяют обычный и низкомолекулярные (НМГ) их виды. Первый, представляет собой смесь полисахаридов, имеющих большой диапазон молекулярной массы – от 2000 до 30000 да, тогда как НМГ – всего 3000-7000 да. Как обычный гепарин, так и НМГ проявляют свое антитромботическое действие образуя комплекс с АТ III. Но если комплекс гепарин-АТ-III преимущественно инактивирует тромбин (фактор Iia) и в меньшей степени фактор Ха и другие

<sup>4</sup> Выполняется лишь при наличии агрегометра.

ферментные факторы свертывания, то с НМГ преобладает анти-Ха действие с вариацией отношения анти-Ха/анти-IIa от 4,1 (у фраксипарина) и 3,7 (у клексана) до 2,0 (у фрагмина). Чем выше этот показатель, тем более значителен антитромботический эффект и тем менее выражен антикоагулянтный и геморрагический.

Контроль за свертываемостью крови при терапии обычным гепарином может осуществляться у постели больного. В этом случае определяют время свертывания цельной крови в пробирке, (по Ли-Уайту), которое при лечении должно удлиниться от исходных значений примерно в 2 раза. Однако этот метод крайне приблизителен, его результаты зависят от температуры окружающей среды, материала пробирки и опыта персонала. Более точные результаты дает применение стандартизированных лабораторных методик.

Таблица 15.

### **Ориентировочная схема обследования для контроля за лечением обычным гепарином**

<b>Основные методы:</b>	<b>Должное значение</b>
АПТВ	индекс АПТВ поддерживается в определенном диапазоне в зависимости от методики введения гепарина*
Уровень растворимого фибрина (РФМК) в плазме**	норма (до 5,0 мг%)
<b>Дополнительные:</b>	
Количество тромбоцитов	отсутствие снижения
Активность АТ III	более 80%***

**Примечание:** \* - реакция теста на гепарин зависит от повышения в крови острофазных белков и снижения уровня АТ III, а также базовых расстройств гемокоагуляции (дефицит факторов свертывания, циркулирующие антикоагулянты, ДВС-синдром). Кроме того разные АПТВ-реагенты имеют неодинаковую чувствительность к гепарину и в разной степени реагируют на антикоагулянтный его эффект. Поэтому при динамическом контроле важно использовать одни и те же диагностические наборы, адаптировать дозы обычного гепарина к используемым реагентам (см. также приложение 7).

\*\* - при определении по орто-фенантролиновому тесту; возможно измерение для этой цели уровня других маркеров тромбинемии (фрагмента протромбина 1+2, комплекса тромбин-антитромбин и др.).

\*\*\* - снижение АТ III встречается в случаях массивной или длительной гепаринотерапии. Для продолжения лечения необходимо восполнение уровня антикоагулянта трансфузиями свежезамороженной плазмы или соответствующими концентратами АТ III.

### **Осложнения при применении обычного гепарина.**

Остановимся на ситуациях, когда гепаринотерапия может привести к парадоксальным тромбозам. Такую клиническую картину могут спровоцировать гепарин-индуцированная тромбоцитопения или чрезмерная нагрузка гепарином на фоне снижения активности АТ III.

Установлено, что у 1-5% больных применение обычного гепарина способно вызвать тромбоцитопению, которая, примерно, в 30% случаев осложняется так называемыми “рикошетными” тромбозами [22,102].<sup>1</sup>

Различают следующие два вида гепарин-индуцированных тромбоцитопений (ГИТ).

- Раннюю, ГИТ-1, возникающую в первые 3-4 дня применения препарата. Эта тромбоцитопения бывает, как правило, весьма умеренной и не требует отмены гепарина, но предполагает более тщательный контроль за динамикой тромбоцитов.
- Значительно более серьезным осложнением терапии гепарином является иммунная ГИТ-2, характеризующейся значительно более выраженным и стабильным снижением количества тромбоцитов в крови (ниже  $100 \times 10^9/\text{л}$  или по меньшей мере на 30% от исходного), обусловленная выработкой антигепариновых антител. Возникает ГИТ-2 на 6-12-й день от начала применения гепарина. Она настолько опасна, что требует немедленного отказа от дальнейших введений гепарина и перехода на другие методы антитромботической профилактики и терапии. В связи с чем контроль количества тромбоцитов в крови необходимо проводить на 6-7 и 10-14 сутки от начала введений антикоагулянта [22,104].

Массивная нагрузка гепарином (без замещения дефицита АТ III) способствует, с одной стороны дальнейшему углублению дефицита этого физиологического антикоагулянта, а с другой, может привести к тромбозам в связи с резким дисбалансом между про- и антикоагулянтными звеньями гемостаза. С такими ситуациями в практике мы сталкивались в случае ошибочного болюсного введения 50 тыс. МЕ обычного гепарина и в ряде ситуаций чрезмерной гепаринизации у больных с исходным снижением уровня АТ III в период перед операцией на сердце с использованием аппарата искусственного кровообращения.

#### ***Лабораторный контроль за профилактическими дозами обычного гепарина.***

При применении гепарина в профилактических дозах п/кожно (5000-15000 МЕ/сут в 2-3 приема) контроль за лечением, как правило не требуется, если учитываются противопоказания к проведению гепаринопрофилактики [83]. Тем не менее оценивается динамика тромбоцитов в тех случаях, когда предполагаемая продолжительность профилактических введений препарата превышает 1 неделю.

#### ***Лабораторный контроль за действием низкомолекулярных гепаринов (НМГ).***

Профилактическое использование НМГ (фраксипарина, фрагмина, клексана) не требует лабораторного контроля (за исключением оценки динамики количества тромбоцитов в крови), однако лечебное их применение требует слежения за действием этих препаратов с целью предотвращения избыточного введения и провокации тяжелых геморрагических осложнений. При лечебном применении НМГ контроль дозирования не может быть осуществлен по АПТВ, поскольку НМГ в отличие от обычного гепарина обладают преимущественно анти-Ха действием, многие авторы в систему контроля вводят способ оценки анти-Ха активности с использованием хромогенного субстрата. Однако диагностические наборы для таких определений достаточно дороги и мало доступны большинству отечественных лабораторий и не позволяют сколько-нибудь надежно определять степень угрозы развития у больных геморрагических осложнений [28,31].

Таким образом, проблема контроля за дозировками НМГ пока не может считаться решенной, но наметился значительный прогресс по мониторингованию достаточности их применения (см. ниже).

---

<sup>1</sup> Зарегистрированный в 2004 году в Фармкомитете РФ низкомолекулярный синтетический пентасахарид – арикстра – не вызывает тромбоцитопении.

**Лабораторный контроль за действием не прямых антикоагулянтов (ингибиторов витамина К)**

Отдельная и очень важная задача стоит перед лабораторией в помощи клиницистам при контроле за эффективностью и достаточностью терапии непрямыми антикоагулянтами (варфарин, пелентан, синкумар, фенилин<sup>1</sup> и др.), широко используемыми в кардиологической практике и в хирургии при патологии сосудов (см. табл. 16). Применяемый ранее в нашей стране метод контроля такой терапии по оценке протромбинового индекса устарел и требует перехода в соответствии с рекомендациями ВОЗ и Международного комитета по тромбозам и гемостазу (1983) к определению международного нормализованного отношения (МНО или INR), который вычисляется при использовании тромбопластина, стандартизированного по международному индексу чувствительности [1,30,32,48,49,82,84,105,108,110].

Таблица 16.

**Ориентировочная схема обследования при контроле за лечением непрямыми антикоагулянтами**

Основные методы	Должное значение
Протромбиновый тест	МНО 2,0-3,5
Дополнительные	
АПТВ *	Умеренное удлинение
Уровень протеинов С и S (в Глобал-тесте), нормализованное отношение (НО) **	НО 0,55-0,75 (норма – более 0,8)

**Примечание:** \* - резкое удлинение АПТВ на фоне приема варфарина, непропорционально показаниям протромбинового теста, может быть связано с мутацией аланина в 10-й позиции фактора IX (ala-10), приводящей к высокому риску кровотечений. Исследование рекомендуется выполнять наряду с протромбиновым тестом в течение первой недели от назначения варфарина;

\*\* - снижение показателя НО, сопутствующее дефициту протеина С, перед началом терапии непрямыми антикоагулянтами может привести к тромбозам в первые дни лечения, так называемым «варфариновым некрозам» кожи. Исследование целесообразно проводить непосредственно перед началом варфаринотерапии.

При определении МНО расчеты проводят в два этапа.

**Этап первый:** определяют протромбиновое отношение (ПО) в единицах по формуле:

$$ПО = (ПВ \text{ больного} / ПВ \text{ контрольной нормальной плазмы})$$

**Этап второй:** ПО возводят в степень международного индекса чувствительности тромбопластина – МИЧ (или ISI – International Sensitivity Index), который должен быть указан в маркировке фирмой-изготовителем) и таким образом рассчитывают МНО (или INR – International Normalized Ratio)<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Из-за токсичности и малой управляемости антикоагулянтного действия фенилин устарел и повсеместно не рекомендуется для применения в клинической практике. Препараты данной группы, действующие как антагонисты витамина К, снижают синтез гепатоцитами полноценных факторов свертывания II, VII, X и XI, а также протеинов С и S – физиологических антикоагулянтов.

<sup>2</sup> Преимущество такого тромбопластина в учете двух его характеристик – как активности, измеряемой по времени свертывания контрольной нормальной плазмы, так и чувствительности к дефициту факторов протромбинового комплекса.

Например, протромбиновое время плазмы больного, получающего варфарин – 42 с. Протромбиновое время контрольной нормальной плазмы – 14 с. МИЧ (или ISI), указанный в инструкции к тромбопластину – 1,1. Отсюда МНО для данного больного =  $ПО_{МИЧ} = (42 : 14)^{1,1} = 3,35$ . Нормальное МНО, вне приема непрямых антикоагулянтов, близко к 1,0 (0,7-1,3). Терапевтический диапазон МНО, как правило, соответствует пределам от 2,0 до 3,0.

Рекомендуемая в настоящее время степень гипокоагуляции в единицах МНО при приеме варфарина приведена в таблице 17.

Таблица 17.

**Поддерживаемый диапазон МНО в стабильной фазе лечения непрямыми антикоагулянтами больных с разными видами патологий<sup>1</sup>**

Показания	Значения МНО	Длительность лечения
Имплантированы биопротезные клапаны сердца-то же при наличии мерцания/трепетания предсердий	2,0-3,0 2,0-3,0	3 мес без ограничения
Имплантированы механические клапаны сердца	2,5-3,5	без ограничения
После операций реваскуляризации миокарда при наличии факторов риска развития тромбозмболии (неполная реваскуляризация, низкая фракция выброса)	2,0-3,0	без ограничения
При наличии порока или пролапса митрального клапана на фоне синусового ритма, если в анамнезе была артериальная эмболия, имеется явное увеличение левого желудочка и его дисфункция, величина левого предсердия превышает 5,5 см или при наличии митрального порока наблюдается несколько факторов риска для развития тромбозмболии	3,0-4,0	без ограничения
Перед устранением хронического (на протяжении более 48 часов) мерцания или трепетания предсердий	2,0-3,0*	3 недели
После устранения хронического мерцания или трепетания предсердий	2,0-3,0*	4 недели
После перенесенного переднего инфаркта миокарда при наличии пристеночного тромба в левом желудочке	2,0-3,0	не менее 3 мес
Постоянное трепетание или мерцание предсердий	2,0-3,0*	без ограничения
Острый илеофеморальный тромбоз после тромболизиса и терапии гепарином	2,0-3,0	3-6 мес
Острый тромбоз вен голени после гепаринотерапии	2,0-3,0	до 3 мес
Хронический посттромбофлебитический синдром или наличие ТЭЛА в анамнезе	1,5-2,5	длительно
Рецидивирующие тромбозы вен или наличие постоянного фактора риска для тромбозмболии**	1,5-2,5	без ограничения

<sup>1</sup> Приводимые рекомендации по дозированию согласованы с изложенными в материалах 5-й Консensus-конференции по анти тромботической терапии Американской коллегии грудных врачей (5th ACCP Consensus Conference on Antithrombotic Therapy, 1988, 2001) и методическими рекомендациями 2001 г. той же коллегии (Guidlines for Antithrombotic Therapy. Fourth Edition. Summary of the American College of Chest Phisicians Recommendations, 2000; J.Hirsh, 2001).

Показания	Значения МНО	Длительность лечения
Первичная профилактика инфаркта миокарда у лиц с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений при наличии противопоказаний к аспирину	1,3-1,8	без ограничения
После лечения острой ТЭЛА тромболитическими препаратами и гепарином назначение варфарина в соответствии со степенью тяжести ТЭЛА, в том числе:		
- при подозрении на ТЭЛА	2,0-3,0	до 3 мес
- при ТЭЛА	2,0-3,0	6-12 мес

**Примечание:** \* – возможны варианты при конкретной клинической ситуации.

При наличии противопоказаний для варфарина назначается аспирин в дозе 325 мг/сут.

\*\* – при диагностированной тромбофилии (аномалия Лейден, дефицит АТ III, плазминогена, повышение концентрации фактора VIII, наличие антифосфолипидного синдрома).

Чем выше МНО, тем значительнее полученная гипокоагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения. Вместе с тем, определение МНО, в сравнении с протромбиновым индексом, позволяет более точно подобрать дозу антикоагулянта и уменьшить риск кровотечений, связанных с его передозировкой.

Ориентировочный алгоритм подбора лечебной дозы и мониторингирования эффектов варфарина приведен в приложении 8.

### **Факторы, влияющие на подбор доз и мониторинг гипокоагуляции при терапии варфарином**

Опыт нашего центра и публикации других авторов позволили выделить ряд факторов или условий, определяющих противотромботический эффект варфарина. Эти условия можно разделить на следующие группы:

1. *Влияние особенностей питания и диеты (см. приложение 9).* Поскольку механизм действия АНД напрямую связан с конкурентным ингибированием витамина К, избыточное поступление этого витамина с продуктами питания зачастую становится причиной варфаринорезистентности. Следует учитывать высокое содержание витамина К в зеленых овощах – шпинате, салате, капусте, бобовых, а также в морепродуктах (морских водорослях), говяжьей печени, сливочном масле, сыре. Термическая обработка пищи разрушает витамин К. Необходимо нормировать потребление этих продуктов питания у пациентов при терапии АНД, особенно в период подбора дозы в нестабильную фазу индуцируемой гипокоагуляции (до 6 недель).

2. *Влияние сопутствующей соматической патологии.* При заболеваниях, со значительным повреждением паренхимы печени, сопровождающихся гипербилирубинемией, происходит вытеснение варфарина из комплекса с белками крови, что увеличивает его доступность гепатоцитам и усиливает его антикоагулянтное действие. К повышению чувствительности к варфарину приводят ситуации с нарушением образования и эвакуации желчи при обтурации желчевыводящих путей, синдроме малобсорбции. Последнее нередко наблюдается при состояниях после резекции тонкого кишечника, панкреатитах. При заболеваниях, усиливающих обмен веществ (тиреотоксикоз, лихорадочные состояния), происходит повышение чувствительности к АНД, напротив, при микседеме эта чувствительность снижается.



3. *Влияние мутаций, обуславливающих повышенную или сниженную чувствительность к варфарину (варфаринорезистентность).* Описаны пациенты с врожденной резистентностью к кумариновым препаратам, которым для достижения терапевтического эффекта требуется введение чрезвычайно больших доз. Резистентность (снижение чувствительности) к варфарину связывают с генетически обусловленной аномалией рецептора гепатоцита, что требует для достижения терапевтического эффекта 5-20-кратного увеличения привычной дозы (приблизительно с 5 мг до 25-100 мг). С другой стороны – резкое повышение чувствительности к варфарину может проявляться при двух вариантах мутации фактора IX, когда кровотечение может возникнуть без существенного удлинения свертывания в протромбиновом тесте (уровень фактора IX снижается до 1-3%, в то время как факторы протромбинового комплекса – до 30-40% от нормы). Эти аномалии и мутации редки и наблюдаются в популяции менее, чем в 1,5% [101].

Вместе с тем, рядом исследователей, в том числе отечественных [40] сообщается о высокой частоте встречаемости (около 27%) полиморфизма гена цитохрома 2C9 семейства P-450. Данные пациенты быстрее достигают терапевтического уровня гипокоагуляции и нуждаются в значительно меньшей дозе препарата.

4. *Влияние приема других лекарственных средств.* Важная роль в кумуляции или ослаблении антикоагулянтного эффект варфарина принадлежит совместно применяемым медикаментам. Наибольшее значение в повышении чувствительности к варфарину играют большинство антибиотиков, угнетающих нормальную кишечную микрофлору, средства, снижающие функцию тромбоцитов (аспирин, нестероидные противовоспалительные препараты), а также анаболические стероиды, пропранолол, амиодарон, омепразол, циметидин, клофибрат, метронидазол, изониазид. Ослабляющее действие на прием кумаринов оказывают барбитураты, холестирамин, карбамазепин, гризеофульвин, азатиоприн, рифампицин. Следует учитывать также при лечении варфарином возможный прием поливитаминных комплексов, содержащих витамин K.

5. *Адекватность лабораторного мониторинга за гипокоагуляционным эффектом варфарина по протромбиновому тесту в единицах МНО.*

6. *Регулярность приема препарата.* Причиной несистематического применения варфарина является забывчивость или психические расстройства у больных, приводящие к пропуску или, наоборот, получению завышенной суточной дозы

Учет этих закономерностей как в период становления антикоагулянтного действия варфарина, так и при длительном его приеме, может помочь решить вопросы безопасности и эффективности данного метода профилактики тромбозов.

### ***Мониторирование эффектов и достаточности примененных доз антикоагулянтов***

Контроль за дозированием антикоагулянтов (по оценке времени свертывания в АПТВ или протромбиновом тесте) с целью предупреждения геморрагических осложнений не дает ответа на наиболее важный вопрос: в какой степени удалось с помощью проводимой терапии предупредить угрозу повторного возникновения (рецидивов) тромбозов, а также нарастания массы уже имеющих тромбов. Иначе говоря, речь идет о мониторинговании эффективности и достаточности проводимого лечения. Без такого контроля неизбежны случаи избыточного (по дозам и времени использования) или, наоборот, недостаточного применения антикоагулянтов. В частности, пока достаточно произвольно решается вопрос, какова должна быть продолжительность антикоагулянтной профилактики и терапии в посттравматическом и послеоперационном периоде, при онкотромбозах, у людей пожилого возраста и т.д. С трудностями в подборе доз препаратов сталкиваются

врачи при лечении больных с ожирением и отеками, когда нельзя рассчитать дозу на кг массы тела, при беременности (учитывая задержку жидкости, вес плода и околоплодных вод), при онкотромбозах с особо высокой тромбофемией, при ДВС синдромах и у лиц преклонного возраста, особенно с сердечной недостаточностью, артериальной гипертензией и у перенесших мозговой инсульт. Во всех этих случаях представляется важным мониторинг антикоагулянтной терапии по основному ее эффекту – ликвидации тромбемии, поскольку пока имеется тромбемия сохраняется высокий риск появления и прогрессирования тромбозов. С другой стороны, ликвидация тромбемии исключает развитие коагуляционных тромбов.

Наш опыт показывает, что при достижении, после назначения кумаринов или гепаринов, рекомендуемых уровней гипокоагуляции, тромбемии, в силу разных причин, часто не купируется, оставаясь нередко на достаточно высоком уровне. Об этом же свидетельствует опыт других авторов [40,41] сообщивших, что достижение и поддержание необходимо уровня гипокоагуляции в единицах МНО (в частности при терапии варфарином больных после имплантации механических клапанов сердца) в ряде случаев не предохраняет от внутрисосудистого тромбообразования. С другой стороны, при тромбофилиях, которым свойственна не гипер-, а гипокоагуляция (антифосфолипидный синдром, дисфибриногенемия и др.), трудно проводить контроль за гепаринотерапией из-за исходного снижения свертываемости крови. Во многих же других случаях расчетные дозы антикоагулянтов бывают избыточными, поскольку тромбемия купируется и при более низких количествах вводимых препаратов и при менее значительной гипокоагуляции.

В целях мониторинга тромбемии при назначении антикоагулянтов нами используется разработанный в нашем центре орто-фенантролиновый тест, позволяющий проводить определения РФМК в плазме, в эквиваленте фибрин- мономера, доступные для всего многообразия клинических лабораторий [28,74,75].

Для этой же цели могут быть использованы и другие маркеры тромбемии и активации фибринолиза – и прежде всего, уровня D-димера (см. приложение 10).

Сравнительно новый и широко изучаемый (за рубежом) метод контроля за антикоагулянтной терапией (а также лечением гемостатическими препаратами при гемофилии) заключается в выполнении теста генерации тромбина, предусматривающего оценку способности плазмы крови продуцировать тромбин [100,107].

Принцип метода заключается в измерении количества тромбина (в пМ) в смеси с флюорогенным субстратом, который образуется при рекальцификации цитратной плазмы в присутствии фиксированной концентрации фосфолипида (или тканевого фактора). С помощью флюориметра и компьютерной обработки данных за определенный отрезок времени измеряют площадь кривой генерации тромбина, имеющей восходящую часть, участок достижения максимума и нисходящую часть, характеризующую инактивацию этого фермента. Можно заметить, что эта методика имеет определенное сходство с известным двухступенчатым аутокоагуляционным тестом по Berkarda et al., предложенном еще в 1965 году. Более подробные сведения о тесте генерации тромбина и сфере его применения можно получить из полностью посвященного этому вопросу выпуска журнала *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis* [V. 33 (1), 2003], а также отечественного обзора Ю.А.Морозова [80].

### **Лабораторный контроль за действием тромболитических препаратов**

Тромболитическая терапия в настоящее время является основным методом быстрой и ранней медикаментозной ликвидации тромбов и частичного или полного восстановления кровотока в тромбированном сосуде. Она используется для предупреждения и купирования развития острого инфаркта миокарда, уменьшения зоны некротических изменений в миокарде, реканализации других затромбированных сосудов. Введение препаратов при этом осуществляется системно или непосредственно к месту образования тромба посредством катетера. Лабораторный контроль и мониторинг такой терапии тем не менее мало формализован в связи с достаточно широким спектром и индивидуальными особенностями действия отдельных фибринолитических средств. Наиболее употребляемыми из них являются [26,34,82]:

1. Стрептокиназа – гетерогенный активатор плазминогена, получаемый из некоторых штаммов стрептококков либо рекомбинантно (стрептокиназа, стрептаза, авелизин, кабикиназа и др.).
2. Тканевой (эндотелиальный) активатор плазминогена (актелизе, альтераза, активаса и др.)
3. Урокиназа (проурокиназа или сарулаза, аббокиназа, одноцепочная урокиназа);
4. Ацилированный комплекс стрептокиназы с плазминогеном – АПСАК (анист- реплаза, эминаза).

Таблица 18.

#### **Ориентировочная схема обследования для контроля за лечением фибринолитиками**

<b>Основные методы:</b>	<b>Рекомендуемое значение</b>
Концентрация фибриногена	более 1,0 г/л*
Тромбиновое время	гипокоагуляция**
Уровень D-димера в плазме	свыше 500 нг/мл***
Концентрация плазминогена	не менее 65%****

**Примечание:** \* – падение фибриногена до уровня менее 1,0 г/л способствует риску кровотечения; \*\* – связанная с гипофибриногемией и влиянием продуктов фибринолиза и фибриногенолиза на на преобразование фибриногена в фибрин (конечный этап свертывания); \*\*\* – маркер интенсивности лизиса стабилизированного фибрина; \*\*\*\* – назначение стрептокиназы мало эффективно при выраженном снижении концентрации плазминогена

Учитывая, что тромболитики не применяются многократно в период острого тромбоза (или тромбоземболии) и процедура, как правило, ограничивается болюсным или медленным в/венным введением препарата на протяжении нескольких часов, мониторинг такой терапии по методам, приведенным в таблице 18, представляется мало полезным для практики, в отличие от объективных способов оценки восстановления кровотока. Тем не менее, получаемая лабораторным путем информация может помочь уменьшить риск развития опасных для жизни кровотечений, прежде всего мозгового инсульта, и оценить эффект от применяемых средств по количеству увеличивающихся в циркуляции продуктов лизиса фибрина (D-димера). Признаком угрозы кровотечений могут служить значительные кровотечения при венепункциях.

Суммируя сказанное можно отметить, что перед лабораторией стоит задача найти с помощью минимального числа тестов кратчайший путь к диагнозу, отказавшись от мало полезного однотипного обследования больных с разными видами патологии. Следование этому принципу обеспечит адресность диагностики, сократит трудозатраты и расход материальных ресурсов, позволит проводить действительно нуждающимся больным анализ нарушений гемостаза более глубоко и более качественно.

**Третий принцип.** Повторное обследование и определение динамики выявленных изменений показателей гемостаза, позволяет дифференцировать патологию от варианта нормы (табл. 19), проводить контроль за эффективностью целенаправленной терапии, а также подтверждать диагноз в случае выявления серьезных нарушений в системе гемостаза, таких как снижение уровня фактора Виллебранда, других факторов свертывания, тромбоцитопении, дефицита или аномалии действия физиологических антикоагулянтов, выраженной тромбинемии и др. Известно, что некоторые виды патологии проявляются в определенных «нестандартных» условиях, например, персистенция волчаночного антикоагулянта во время и вне беременности [16].

Таблица 19.

**Ориентировочный разброс нормальных результатов по ряду параметров коагулограммы [30]**

Показатель	Диапазон нормальных значений
Количество тромбоцитов в крови	170-350x10 <sup>9</sup> /л
Концентрация фибриногена	2,0-4,0 г/л
Активность фактора VIII	70-150%
Активность антитромбина III	80-120%
Активность протеина С	70-140%

**Четвертый принцип.** Безусловное значение для качественного обследования имеет адекватная подготовка больного к даче крови, сама методика кровопускания и стабилизации крови [30,45,50,76,81,93].

Кровь берут утром натощак из локтевой вены иглой с широким просветом без шприца (самотеком по стенке пробирки). Допустимо лишь кратковременное наложение жгута. Использование шприца недопустимо из-за активации тромбоцитов и факторов свертывания крови турбулентным движением крови и ее смешивания с воздухом (вспенивания).

Состояние стресса (психологического или физического) может вызвать повышение агрегационных свойств тромбоцитов и тромбинемии.

В некоторых клинических ситуациях (например, при шоке) извлечение крови из локтевой вены затруднительно из-за низкого давления. Попытки при этом медленно набрать кровь с помощью шприца часто заканчиваются неудачей – кровь свертывается. В таких случаях можно прибегнуть к забору крови из катетера (подключичного), однако следует помнить о возможности загрязнения такой крови гепарином [73].

Кровь смешивают с 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. На этом этапе могут быть допущены три ошибки. Первая из них – ошибка точности и правильности приготовления раствора стабилизатора. Важно учесть, что трехзамещенный 5,5-водный цитрат натрия ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 5,5 \text{ H}_2\text{O}$ ) готовится в концентрации 3,8%

(0,11 М), а 2-водный – в концентрации 3,2%. Все другие антикоагулянты – ЭДТА, гепарин и оксалат натрия – менее пригодны, поскольку в оксалатной плазме некоторые факторы свертывания (например, фактор V) нестабильны, а гепарин и ЭДТА ингибируют процесс свертывания, не позволяя проводить исследование гемокоагуляции [45].

Хранение раствора цитрата допускается в течение 1 недели при +2...+8 °С. Более длительное хранение приводит к бактериальному загрязнению и снижению концентрации цитрата натрия. Вторая – принятое соотношение крови с раствором стабилизатора (9:1) правильно лишь при нормальном гематокритном показателе, в связи с тем, что раствор цитрата остается в плазме и не проникает в клетки крови. Поэтому при высоком гематокрите (свыше 70%) в плазме крови создается избыточная концентрация цитрата, приводящая к «ложной» гипокоагуляции. Напротив, при снижении гематокрита (ниже 35%), например, при анемии, обнаруживается «ложная гиперкоагуляция» и кровь при ее смешивании с цитратом в отношении 9:1 может свернуться в пробирке еще до исследования. Перерасчет объема стабилизатора в соответствии с показателем гематокрита (табл. 20) позволяет избежать этой ошибки [30,76].

Таблица 20.

**Соотношение объемов 3,8% раствора цитрата натрия и крови в зависимости от величины гематокрита**

Показатель гематокрита, %	Объем антикоагулянта, мл	Объем крови, мл
20-21	1,4	8,6
22-27	1,3	8,7
28-33	1,2	8,8
34-39	1,1	8,9
40-45	1,0	9,0
46-51	0,9	9,1
52-57	0,8	9,2
58-60	0,7	9,3
Более 65	0,5	9,5

**Примечание:** Следует учитывать, что у здоровых новорожденных (до 5 дня) в условиях физиологической полиглобулии гематокритный показатель составляет 55-60% [36].

Наконец, одной из наиболее частых погрешностей при заборе крови является плохое или недостаточное перемешивание ее со стабилизатором. Для предотвращения этого упущения требуется немедленно, после заполнения пробирки кровью до требуемого объема, закрыть ее крышкой (не резиновой) или чистым фрагментом полиэтиленовой пленки и 2-3 раза медленно перевернуть (не встряхивая).

Стабилизированную кровь до центрифугирования (в том числе и в процессе транспортировки) хранят при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 1 ч. Транспортировка крови на большие расстояния и ее частое встряхивание искажают результаты исследования.

Для получения богатой или бедной тромбоцитами плазмы кровь последовательно центрифугируют. При этом важно для результатов анализа соблюдать режим центрифугирования.

**Получение богатой тромбоцитами плазмы.** Стабилизированную кровь после уравнивания пробирок центрифугируют при 1000 об/мин (140-160g) в течение 5-7 мин. Более значительное ускорение (!) приводит к обеднению плазмы тромбоцитами, искажает результаты при определении количества и функции тромбоцитов в плазме. Поэтому для получения необходимых результатов следует уточнять число об/мин в соответствии с радиусом ротора конкретной центрифуги. К паспорту центрифуги должна быть приложена таблица, указывающая связь между числом оборотов и величиной центробежной силы (g). Если ее нет, следует воспользоваться формулой Kosnig A.S. et al. (1982):

$$g = 1,118 \times 0,00001 \text{ r} \times \text{n}^2,$$

где r – радиус центрифуги (расстояние в сантиметрах между осью ротора и центром пробирки в гнезде центрифуги); n – число оборотов в 1 мин.

Плазму без взмучивания, отбирают с помощью силиконизированной или полуавтоматической пипетки с пластиковым наконечником и переносят в другую пробирку для исследования или повторного центрифугирования с целью получения бедной тромбоцитами плазмы. Богатая тромбоцитами плазма замораживанию не подлежит.

#### **Получение плазмы, бедной тромбоцитами**

Богатую тромбоцитами плазму центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200-1400g) в течение 15 мин. При более слабом ускорении в плазме остается значительная часть тромбоцитов, которые обуславливают недостоверность исследования каолинового времени свертывания бедной тромбоцитами плазмы (в том числе при определении прокоагулянтной активности плазменных фосфолиппротеидных мембран), определений волчаночного антикоагулянта, в тестах с коагулазами ядов гюрзы и гадюки Рассела и в других тестах.

В ряде случаев, для проведения исследований по сокращенной схеме (определение протромбинового и тромбинового времени, АПТВ, концентрации фибриногена) допустимо центрифугирование для получения бедной тромбоцитами плазмы непосредственно из крови – при 3000-4000 об/мин (1200-1400g) в течение 15 мин.

Центрифугирование проводят при комнатной температуре. Обогащенную и бедную тромбоцитами плазму хранят в тех же условиях (+18...+25 °C) в стеклянных силиконизированных или пластиковых пробирках (предпочтительный материал – полистирол) и исследуют в течение первых 1-2 часов от времени получения.

При исследовании крови больных, получающих лечение гепарином, а также при анализе крови, полученной при помощи катетера, бедная тромбоцитами плазма для исследования ряда параметров коагулограммы обрабатывается сорбентами гепарина, например, реагентами Гепасорб-I или Гепасорб-II, российского производства [73].

**Пятый принцип.** Интерпретация показателей коагулограммы должна вестись с учетом возможного влияния принимаемых больными медикаментов (табл. 21).

Таблица 21.

**Лекарственные препараты, влияющие на показатели гемокоагуляции [56,72]**  
с дополнениями

Методы исследования	Медикаменты и химические препараты
Время кровотечения	<p><u>Укорочение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• проагреганты, прокоагулянтные средства.</li> </ul> <p><u>Удлинение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• гепарин, декстран, дипиридамо́л, простаглицин, стрептокиназа, урокиназа;</li> <li>• ацетилсалициловая кислота (прием в течение 7 дней до момента исследования), нестероидные противовоспалительные препараты (индометацин, ибупрофен, напроксен, толметин и др.);</li> <li>• пенициллин, карбенициллин, ампициллин, нафциллин, пиперацillin, тикарциллин, азлоциллин, митрамицин, моксалактам, нитрофурантоин;</li> <li>• аминокaproновая кислота, этанол, сульфинпиразон, нитроглицерин, гелотан;</li> <li>• рентгеноконтрастные препараты.</li> </ul>
Агрегация тромбоцитов при исследовании на агрегометре	<p><u>Повышение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• гепарин, никотин;</li> <li>• гормональные контрацептивы.</li> </ul> <p><u>Снижение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• нестероидные противовоспалительные препараты, аспирин, карбенициллин, пенициллин, флуфенамовая кислота, мефенамовая кислота;</li> <li>• декстран, дипиридамо́л, диуретики, хлорохим, хлорпромазин, гваякол, клофибрат, ципрогептадин, нитрофурантоин, сульфинпиразон;</li> <li>• фентоламин, фенилбутозон, пиридинола карбамат, антидепрессанты трициклические, прометазин, пропропанол, простаглицин E1, метоксифлюран, закись азота, галотан;</li> <li>• аминазин, анаприлин.</li> </ul>
Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ)	<p><u>Удлинение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• нефракционированный (обычный) гепарин, непрямые антикоагулянты (варфарин, фенилин, пелентан, синкумар, неодикумарин и др.).</li> </ul>

Методы исследования	Медикаменты и химические препараты
Протромбиновое время	<p><u>Удлинение:</u></p> <p>Препараты, потенцирующие действие непрямых антикоагулянтов: ацетогексамид, аминосалициловая кислота (в больших дозах), аллопуринол, антибиотики, гепарин, аспарагиназа, никотиновая кислота, этанол (в больших количествах при алкоголизме), галотан, метотрексат, пиразинамид, циклофосфамид, слабительные средства, сульфаниламиды (длительное воздействие), диазоксид, дисульфирам, сульфинпиразон, тиазидные диуретики, хинин, хининдин, толбутамид, этакриновая кислота, налидиксовая кислота, метилдофа, метилфенидат, нортриптилин, ингибиторы МАО.</p> <p><i>Средства, взаимодействующие с непрямыми антикоагулянтами и усиливающие их эффект:</i> клофибрат, анаболические стероиды, глюкагон, хлоралгидрат, хлорамфеникол, индометацин, мефенамовая кислота, фенитион, оксифенбутазон, фенилбутазон, фенираמידол, метронидазол, неомицин, циметидин.</p> <p><u>Недостаточное удлинение на фоне приема непрямых антикоагулянтов:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• гормональные контрацептивы, мепробамат, меркаптопурин, ацетилсалициловая кислота;</li> <li>• лекарства, ингибирующие действие непрямых антикоагулянтов: барбитураты, этхлорвинол, глутетимид, гризеофульвин, гептабарбитал, витамин К;</li> <li>• лекарственные препараты, способные ослаблять действие непрямых антикоагулянтов: кортикостероиды, рифампин, колхицин, холестирамин, карбамазепин, фенитоин.</li> </ul>
Тромбиновое время	<p><u>Удлинение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• гепарин, аспарагиназа, стрептокиназа, урокиназа</li> </ul>
Фибриноген	<p><u>Повышение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• эстрогены, гормональные контрацептивы</li> </ul> <p><u>Снижение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• анаболические стероиды, аспарагиназа, стрептокиназа, урокиназа, актилизе, нефракционированный (обычный) гепарин в высоких дозах.</li> </ul>
Антитромбин III	<p><u>Повышение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• анаболические стероиды, варфарин</li> </ul> <p><u>Снижение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• клофибрат, норадреналин, эстрогены, гормональные контрацептивы, аспарагиназа, интенсивная или длительная гепаринотерапия</li> </ul>
Плазминоген	<p><u>Повышение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• анаболические стероиды, эстрогены, гормональные контрацептивы.</li> </ul> <p><u>Снижение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• стрептокиназа, урокиназа, декстраны.</li> </ul>
Время лизиса сгустка	<p><u>Удлинение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• аминокaproновая кислота.</li> </ul> <p><u>Укорочение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• стрептокиназа.</li> </ul>
Продукты деградации фибриногена и фибрина (ПДФ)	<p><u>Повышение:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• средства тромболитической и дефибринирующей терапии: стрептокиназа, урокиназа, актилизе и др.</li> </ul>



В дополнение отметим, что чаще всего и наиболее значимо, на результатах анализов сказывается гепаринотерапия, прежде всего обычным гепарином, лечение антикоагулянтами непрямого действия, прием антиагрегантов, активаторов и ингибиторов фибринолиза, заместительная терапия компонентами крови и кровезаменителями (способная привести к гиперцитратемии и/или гемодилюции).

**Шестой принцип.** Отказ от дублирующих или малоценных, а также устаревших и неточных методов исследования [30,44,74,76,93], таких, как время свертывания крови, время рекальцификации плазмы, аутокоагуляционный тест, В-нафтоловый (фибриноген В), этаноловый и протаминсульфатный тесты (табл. 22). Причина такого отрицания кроется в низкой стандартизации приведенных методов исследования, возможности измерения результата лишь как положительный или отрицательный (паракоагуляционные тесты), несопоставимостью с общемировыми методическими подходами.

Таблица 22

**Устаревшие методы исследования нарушений гемостаза и варианты их замены**

Методы исследования	Недостатки	Современные методы замены
1. Подсчет количества тромбоцитов в мазке крови по Фонио (на 1000 эритроцитов)	Низкая точность определений, но метод остается целесообразным для оценки морфологии тромбоцитов	Определение числа тромбоцитов в крови с помощью гематологического анализатора либо фазово-контрастной микроскопии в камере Горяева
2. Определение времени свертывания крови	Низкая стандартизация	Активированное парциальное тромбопластиновое время – АПТВ
3. Определение времени рекальцификации	Низкая стандартизация	Активированное парциальное тромбопластиновое время – АПТВ
4. Аутокоагуляционный тест*	Наличие общепринятых аналогов	Активированное парциальное тромбопластиновое время – АПТВ. Определение активности антитромбина III.
5. Фибриноген В, этаноловый тест, протаминсульфатный тесты	Мало информативное качественное выражение результатов («+» или «-»), частая возможность получения ложных результатов	Тесты на маркеры тромбинемии. Наиболее доступный из них – орто-фенантролиновый тест с количественным выражением результатов
6. Концентрация фибриногена в плазме по Р.А.Рутберг (гравиметрический вариант)	Низкая стандартизация, возможность ложного занижения результатов при гипофибриногемии, и, наоборот, завышения при гиперфибриногемии. Грубое нарушение санитарных норм работы с плазмой крови.	Концентрация фибриногена в плазме (хронометрический вариант по Клауссу) с использованием коагулометра любой конструкции

**Примечание:** \* - остается методом выбора для использования в микропедиатрии [36].

**Седьмой принцип.** Использование производительных и высокоточных (в сравнении с мануальными определениями) коагулометров и агрегометров хорошо зарекомендовавших себя фирм-изготовителей лабораторной техники и расходных материалов. В России в настоящее время наиболее популярны оптико-механический 2-х каналный коагулометр «Минилаб 711» А/О Юнимед (Москва) и анализатор агрегации тромбоцитов производства НПФ Биола (Москва), а также стандартизированные наборы реагентов производства фирм «Технология-Стандарт» (Барнаул)<sup>1</sup> и «Ренам» (Москва).

#### ***Классификационные признаки коагулометров***

В настоящее время в диагностической практике все большее распространение приобретают приборы, автоматически регистрирующие время образования фибрина в тестируемой смеси. Такие приборы, имеющие неоспоримые преимущества перед мануальной техникой выполнения, устраняют элементы субъективности при выполнении коагуляционных методов исследования, повышают производительность и заметно облегчают труд специалиста.

Коагулометры отличаются между собой по ряду конструктивных особенностей, в том числе отражающих потребности лабораторий с различной диагностической нагрузкой [68,69].

#### I. По принципу регистрации образования сгустка фибрина

- а) механические;
- б) оптические.

Оптико-механические коагулометры выделять отдельно не следует, а нужно называть их оптическими, так как регистрация сгустка фибрина выполняется оптикой, а механическим способом происходит лишь перемешивание тестируемой смеси.

#### II. По числу регистрирующих каналов коагулометра

- а) одноканальные;
- б) многоканальные (у многоканальных число каналов всегда кратное, так как предусмотрена возможность дублирующих определений и вычисление коэффициента вариации между двумя каналами).

#### III. По совмещению с другими устройствами

- а) простые;
- б) комбинированные (так называют коагулометры, совмещенные с фотометрами для выполнения амидолитических и/или иммунологических тестов).

#### IV. По уровню автоматизации

- а) автоматические;
- б) без автоматических функций, с программируемым модулем вычислений;
- в) коагуляторы (приборы, регистрирующие лишь время образования сгустка фибрина в тестируемой смеси, лишенные программируемого модуля).

Нельзя выделить какие-либо конструктивные преимущества, которым следовало бы отдать предпочтение при выборе коагулометра, многое зависит от потребностей и финансовых возможностей конкретной лаборатории. Однако, весьма значимым параметром для лабораторий, выполняющих более 30-40 исследований в течение суток, является пропускная способность коагулометра, которая зависит от числа регистрирующих каналов (возможные варианты от одного до десяти) или производительности автоматического прибора.

---

<sup>1</sup> – <http://www.tehnologia-standart.ru>

Тромбоэластография по своим возможностям весьма показательный интегральный метод оценки гемостаза, поскольку ее данные отражают функцию тромбоцитов, скорость образования сгустка, его физические свойства, способность к лизису и ретракции. Вместе с тем длительность исследований и низкая воспроизводимость результатов ставит под вопрос ее полезность при использовании традиционного оборудования. Очевидно, эти недостатки исключены в новом поколении приборов этого типа, недавно появившегося в российских лабораториях. Речь идет о 4-х канальном компьютерном тромбоэластографе «poTЭМ» фирмы Pentapharm (российский представитель фирма «Эко-Мед-С М»).

### III. Контроль качества при исследовании системы гемостаза.

Причины, снижающие качество исследований системы гемостаза (см. выше) можно систематизировать по другому и с формальных позиций разделить их на погрешности преаналитического и аналитического этапов работы [45,76,93].

#### **Преаналитический этап**

Этот этап имеет критическую значимость для обеспечения качества исследований, поскольку именно здесь допускается около 80% ошибок при организации и проведении исследования системы гемостаза. Основные из них приведены в табл. 23.

**Таблица 23.**

**Факторы преаналитического этапа, влияющие на качество диагностики нарушений гемостаза**

	Ошибки	Пути устранения
1.	Необоснованное или малоинформативное направление на исследование (экономические потери). Недостаточная подготовка пациента, отсутствие учета возможного влияния медикаментов (гепарина, антиагрегантов, кровезаменителей и др.).	<i>Обоснование показаний лечащим врачом. Заполнение соответствующих разделов в направлении. Правильная подготовка больного, выбор времени взятия крови с наименьшим влиянием на результаты исследования лекарственных препаратов</i>
2.	Недостаточный уровень квалификации персонала лаборатории	<i>Обучение персонала.</i>
3.	Дефекты взятия, хранения и подготовки крови для исследования. Пренебрежение особенностями гематокрита капиллярной крови и крови, полученной из катетера. «Внутрипробирочное» свертывание крови и другие дефекты (гемолиз, сгустки). Ошибки в регистрации проб крови.	<i>Ограничение венозного стаза, получение крови самотеком в пластиковые пробирки, учет гематокрита и концентрации цитрата натрия, равномерное перемешивание крови со стабилизатором, время до исследования не больше 2 ч. Входной контроль крови.</i>
4.	Несоблюдение режима центрифугирования крови и плазмы.	<i>Точное соблюдение режима для получения обогащенной и бедной тромбоцитами плазмы для соответствующих методов исследования.</i>
5.	Низкое качество используемых реактивов, в т.ч. «домашнего» приготовления	<i>Использование стандартизированных наборов и реагентов.</i>
6.	Неправильная обработка стеклянной и пластиковой посуды (пробирки, кюветы)	<i>Выполнение обработки посуды по принятым рекомендациям.</i>

Для качественной диагностики и достоверности заключения достаточное внимание должно быть уделено правильному заполнению лечащим врачом направления на обследование. Кроме обычных указаний (Ф.И.О., возраст и др.) оно должно включать:

- \* время забора крови для исследования;*
- \* клинический диагноз (или ситуация), цель обследования;*
- \* указание о наличии геморрагических (носовых, маточных и др. кровотечений) и/или тромботических проявлений, шока, полиорганной недостаточности, травмы (ожоговой и др.);*
- \* информацию о проводимом лечении, способном оказать влияние на параметры гемостаза (аспирин и другие антиагреганты, антикоагулянты, тромболитики, ингибиторы фибринолиза, гормональные контрацептивы, декстраны, полиглюкины, гемо- и плазматрансфузии и др.), их дозировка, способ и сроки последнего введения.*

Лабораторная диагностика нарушений гемостаза весьма чувствительна к соблюдению известных правил взятия, хранения и подготовки крови для исследования (см. выше). Неверное соотношение крови с раствором 3,8% раствором цитрата натрия, недостаточное их смешивание, длительный временной промежуток от венепункции до исследования крови и ряд других причин неизбежно ведут к «внутрипробирочному» свертыванию крови или, при передозировке антикоагулянта, к ложной гипокоагуляции. Следовательно, принципиально важен также «входной» контроль крови перед проведением ее исследования.

Этот контроль должен включать в себя:

- а) проверку маркировки пробы с обязательным указанием времени забора крови;*
- б) контроль достаточности полученного объема крови по метке на пробирке, соответствие стабилизатора гематокриту;*
- в) контроль на возможное спонтанное свертывание крови, который проводят медленно наклоняя пробирку в горизонтальной плоскости. Стабилизированная кровь не должна иметь сгустков и плотных образований.*

Отдельный вопрос по обеспечению качества исследований гемостаза связан с проблемой использования нестандартизованных реактивов и контрольных материалов, часто «домашнего» происхождения. Прежде всего имеется ввиду тромбопластин, кефалин, сливная контрольная плазма, буфер, раствор хлористого кальция и некоторые другие. Сегодня проблема приобретения недорогих и стандартизованных реактивов снята в связи с работой ряда известных фирм- производителей. Вместе с тем следует помнить, что для растворения реактивов используют только свежую дистиллированную или деионизированную воду (рН должна быть ниже 6,0).

#### **Аналитический этап**

В таблице 24 приведены факторы следующего, аналитического этапа, влияющие на качество лабораторной диагностики нарушений гемостаза. Практика показывает, до 70% причин ошибок на этом этапе связано с недостаточно ответственным отношением специалистов к своей работе и только 30% – с низкой профессиональной подготовкой или недостаточным материально-техническим обеспечением. Ошибка врача имеет высокую цену – 7,5% лабораторных ошибок влекут за собой реальные опасности для пациентов [45].

Таблица 24.

**Факторы аналитического этапа, влияющие на качество диагностики патологии гемостаза**

Ошибки	Возможные пути устранения
<p>1. Погрешности в выборе оптимальных:</p> <p>А. Методов исследования</p> <p>Б. Диагностических схем (алгоритмов) обследования.</p>	<p><i>Выбор оптимальных методик и схем обследования по:</i></p> <p>1) Номенклатуре лабораторных исследований. Раздел 5.0. Коагулологические исследования // Управление качеством клинических лабораторных исследований (Под редакцией В.В.Меньшикова), М.: Лабпресс, 2000. С.104-109;</p> <p>2) Справочникам, в т.ч. по руководству З.С.Баркагана и А.П.Момота. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2001. – 296 с.</p> <p>3) Материалам настоящей работы.</p>
<p>2. Погрешности в работе оборудования и техники проведения исследований:</p> <p>А. При построении калибровочных графиков</p> <p>Б. В процессе измерения пробы (особенности мануального и коагулометрического методов оценки результатов)</p> <p>В. При работе с неточно калиброванным оборудованием (секундомеры, термостаты, дозаторы).</p>	<p>Точное следование инструкции к наборам реагентов.</p> <p>Обязательное использование аттестованных контрольных материалов (нормальных и патологических образцов плазмы). Предпочтение автоматизированным (инструментальным) методам оценки результатов</p> <p>Своевременная калибровка инструментария и приборов.</p>
<p>3. Неправильное взвешивание и дозировка реактивов, либо использование последних с истекшим сроком годности.</p>	<p>Точное следование инструктивной документации.</p>
<p>4. Погрешности в проведении внутрилабораторного контроля качества. Принцип проведения внутреннего контроля состоит в составлении <u>контрольных карт</u>, где с выбранной периодичностью заносят результаты исследования одного и того же контрольного материала. Используются контрольные карты Shewhart, Westgard (выявление случайной или систематической ошибки), по ежедневным средним (контроль правильности), по дубликатам (контроль воспроизводимости).</p>	<p>Руководство источниками:</p> <p>1. Приказ МЗ России № 45 от 7.02.2000 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».</p> <p>2. Контроль качества коагулологических исследований, (методические рекомендации МЗ РФ, 1993//Управление качеством клинических лабораторных исследований (Под ред. В.В.Меньшикова), М.: Лабпресс, 2000. С.71-76.</p> <p>3. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм гемморрагических заболеваний/Под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П.Папаян. С.-Петербург, 1999, 121 с.</p> <p>Раздел «Обеспечение качества лабораторных исследований системы гемостаза» (с. 93-111).</p>

Для обеспечения качества лабораторной диагностики необходимо ежедневно, вместе с пробами плазмы, полученными от больных, исследовать контрольный материал (по тем же показателям). В этом качестве используют слитую плазму с нормальным (смесь в равном объеме плазмы крови не менее чем от 20 практически здоровых доноров) или удлинненным временем свертывания, которая должна быть проверена на отсутствие в ней эритроцитов и гемолиза, разлита во флаконы и быстро заморожена при температуре  $-16...-20^{\circ}\text{C}$ . Контрольную плазму каждый день размораживают (при комнатной температуре) и используют в начале работы [93].

В качестве контрольного материала может быть также востребована коммерческая лиофилированная плазма, аттестованная в нормальной и патологической области фирмой-производителем.

К сожалению, вопросы качества во многих случаях напрямую связаны с материальной состоятельностью клинико-диагностических лабораторий. В отличие от европейских лабораторий и центров диагностики, куда направляется до 40% ассигнований на здравоохранение, большинство отечественных КДЛ в силу материальных причин крайне недостаточно обеспечены реактивами, приборным парком для исследования гемостаза (коагулометрами, агрегометрами, гематологическими анализаторами), необходимым для чувствительной и точной диагностики. Вместе с тем необходимо четко осознавать, что реальная помощь больным при предупреждении и лечении кровотечений и тромбозов, ДВС-синдрома, возможна лишь при серьезном подходе к делу.

В данной работе отмечены не все, но наиболее важные, на наш взгляд, факторы и условия, а также публикации, необходимые для правильной организации службы исследования патологии гемостаза. Надеемся, что данная информация будет полезна не только для врачей-лаборантов, но и для широкого круга специалистов.

## **Извлечение из современной номенклатуры методов лабораторной диагностики [93]**

### **Раздел 5.0 Коагулологические исследования**

#### **5.1. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз (первичный гемостаз)**

##### **• Тромбоциты (2.2.2.).**

- количество тромбоцитов (2.2.2.1.).
- Морфологическая характеристика тромбоцитов (в мазках крови), в том числе, определение размера (микро, макротромбоциты, гигантские формы) (2.2.2.2.).
- Средний объем тромбоцитов (MPV) (2.2.2.4.).
- Показатель анизоцитоза тромбоцитов (PDW) (2.2.2.5.).
- Графическое распределение тромбоцитов по величине, гистограмма (2.2.2.6.).

##### 5.1.1. Рецепторы тромбоцитов lib/IIIa, Ib.

##### **5.1.2. Факторы свертывания тромбоцитов.**

5.1.2.1. Фактор 3 тромбоцитов по его доступности в богатой и бедной тромбоцитами плазме.

5.1.2.2. Фактор 4 тромбоцитов (антигепариновый).

5.1.2.3. Бета-тромбоглобулин.

5.1.2.4. Тромбоспондин.

- Фибронектин плазмы крови (4.1.4.4.).

5.1.2.5. Лейкоцитарный фактор агрегации тромбоцитов (FAT).

5.1.2.6. Серотонин тромбоцитов.

5.1.2.7. Фибронектин тромбоцитов.

##### **5.1.3. Фактор Виллебранда и тромбомодулин.**

5.1.3.1. Активность фактора Виллебранда (по ристомин-агрегации тромбоцитов).

5.1.3.2. Антиген фактора Виллебранда.

5.1.3.3. Мультимерность фактора Виллебранда.

5.1.3.4. Связывание фактора Виллебранда с тромбоцитами и фактором VIII.

5.1.3.5. Тромбомодулин плазмы.

5.1.3.6. Другие факторы тромбоцитов.

##### **5.1.4. Функциональная способность тромбоцитов.**

5.1.4.1. Время кровотечения.

5.1.4.2. Резистентность (ломкость) микрососудов (проба Кончаловского-Румпель-Леёде).

- Адгезия тромбоцитов (2.2.2.3.).

5.1.4.3. Ретенция тромбоцитов.

5.1.4.4. Агрегация тромбоцитов.

5.1.4.4.1. Спонтанная агрегация тромбоцитов.

5.1.4.4.2. Количество агрегатов тромбоцитов в крови.

5.1.4.4.3. Агрегация тромбоцитов с применением агонистов: АДФ, коллагена, адреналина, ристоцетина (ристомин), арахидоновой кислоты, кальций ионофора, серотонина, тромбина, фибрин-мономера, лейкоцитарного фактора агрегации тромбоцитов (FAT).

5.1.4.5. Ретракция сгустка.

5.1.4.6. Продолжительность (длительность) жизни тромбоцитов в циркуляции.

- Антитела к тромбоцитам (6.5.5.).

5.1.4.7. Антитела к гликопротеинам lib/IIIa.

#### **5.2. Коагуляционный гемостаз**

##### **5.2.1. Скрининговые (ориентировочные) тесты.**

5.2.1.1. Время свертывания нестабилизированной крови.

5.2.1.2. Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ, АПТВ).

5.2.1.3. Каолиновое время бедной тромбоцитами плазмы.

5.2.1.4. Каолиновое время богатой тромбоцитами плазмы (активированное время рекальцификации).

5.2.1.5. Кефалиновое время бедной тромбоцитами плазмы (частичное тромбопластиновое время).

5.2.1.6. Прокоагулянтная активность плазменных фосфолипидных мембран (по каолиновому времени бедной тромбоцитами плазмы до и после микрофильтрации).

5.2.1.7. Протромбиновое (тромбопластиновое) время в крови или плазме.

5.2.1.8. Аутокоагуляционный тест.

5.2.1.9. Время свертывания плазмы при активации фактора X лебетоксом (коагулаза яда гюрзы) или ядом гадюки Рассела.

5.2.1.10. Время свертывания плазмы при активации фактора II эхитоксом (коагулаза яда эфы).

5.2.1.11. Тромбиновое время.

5.2.1.12. Рептилазовое время (тест с коагулазой яда щитомордника обыкновенного или коагулазой яда змеи ботрокс – «ботроксклотазой»).

- Фибриноген (фактор I) в плазме крови (4.1.5.7), фибриноген-антиген.

### **5.2.2. Специальные тесты.**

5.2.2.1. Дифференциальная диагностика дефицита факторов VII, X, V или II с использованием комплекса тестов с коагулазами ядов змей (эфы и гюрзы) и протромбинового теста.

5.2.2.2. Факторы свертывания VII, X, V или II по протромбиновому тесту с использованием дефицитных плазм.

5.2.2.3. Антигены факторов свертывания VII, X, V или II.

5.2.2.4. Дифференциальная диагностика дефицита факторов VIII, IX и XI по АПТВ с использованием адсорбированной бариером, профильтрованной, «старой» плазмы и сыворотки крови.

5.2.2.5. Факторы свертывания VIII, IX, XI или XII по АПТВ с использованием дефицитных плазм.

5.2.2.6. Антигены факторов свертывания VIII, IX, XI или XII.

5.2.2.7. Ингибиторы фактора VIII или IX.

5.2.2.8. Некарбоксилированные факторы VII, X и II (PIVKA).

5.2.2.9. Резистентность фактора Va к активированному протеину C (аномалия фактора V Лейден).

5.2.2.10. Аномалия фактора Va Лейден (ПЦР-анализ).

5.2.2.11. Аномалия фактора II (ПЦР-анализ).

5.2.2.12. Фактор XIII (фибринстабилизирующий фактор).

5.2.2.13. Прекалликреин:

- Активность прекалликреина.
- Антиген прекалликреина.

5.2.2.14. Высокомолекулярный кининоген (ВМК):

- активность ВМК.
- антиген ВМК.

### **5.3. Циркулирующие антикоагулянты**

#### **5.3.1. Физиологические антикоагулянты.**

5.3.1.1. Антитромбин III:

- прогрессивная активность антитромбина III.
- гепарин-кофакторная активность.
- антиген антитромбина III.

5.3.1.2. Кофактор гепарина II.

5.3.1.3. Скрининг нарушений в системе протеинов C+S (Глобальный тест, Парус-тест).

5.3.1.4. Протеин C:



- активность протеина С.
  - антиген протеина С.
- 5.3.1.5. Протеин S.
- активность протеина S.
  - антиген протеина S (общего и свободного).
- 5.3.1.6. Антиген ингибитора тканевого пути свертывания (TFPI).
- 5.3.1.7. Альфа-2-макроглобулин.
- Альфа-1-антитрипсин (4.1.5.4.).
- 5.3.1.8. C<sub>1</sub>-ингибитор.
- 5.3.1.9. Ингибитор активности фактора Ха в плазме.
- 5.3.1.10. Тромбин-гепариновое время (скрининговый тест).

### **Патологические антикоагулянты.**

- 5.3.2.1. Антикоагулянты волчаночного типа.
- 5.3.2.1.1. Фосфолипид-зависимые коагуляционные тесты (первичный скрининг):
- АПТВ с люпус-чувствительным кефалином.
  - каолиновое время бедной тромбоцитами плазмы (5.2.1.3.).
  - протромбиновое время с разведенным (ослабленным) тромбопластином.
  - тесты с разведенными (ослабленными) ядами гюрзы или гадюки Рассела.
- 5.3.2.1.2. Подтверждающие тесты:
- по коррекции разрушенными тромбоцитами (или гексагональными фосфолипидами) гипокоагуляции в тестах, перечисленных в 5.3.2.1.1.
  - по добавлению нормальной бедной тромбоцитами плазмы (коррекция дефицита факторов свертывания).
- 5.3.2.1.3. Степень ингибции волчаночным антикоагулянтом активности плазменных фосфолипидных мембран.
- 5.3.2.1.4. Антитела к отрицательно заряженным фосфолипидам.
- антитела к фосфатидилсерину (IgG,M) (6.6.1.3.).
  - антитела к кардиолипину (IgG,M) (6.6.1.2.).
  - антитела к бетта<sub>2</sub>-гликопротеину I (IgG,M).
  - антитела к аннексину V.

### **5.4. Плазминовая (фибринолитическая) система**

#### **5.4.1. Скрининговые тесты.**

- 5.4.1.1. Спонтанный эуглобулиновый лизис.
- 5.4.1.2. Стимулированный эуглобулиновый лизис:
- при активации стрептокиназой.
  - фактором XIIa-калликреином.
  - манжеточной пробой (до и после дозированной компрессии сосудов конечности).
  - Концентрация фибриногена в плазме крови (4.1.5.7.).
  - Тромбиновое время (5.2.1.1.).
  - Рептилазовое время (5.2.1.12.).

#### **5.4.2. Компоненты плазминовой (фибринолитической) системы и продукты фибринолиза.**

- 5.4.2.1. Плазмин.
- 5.4.2.2. Плазминоген.
- Активность плазминогена.
  - Антиген плазминогена.
  - Плазменный прекалликреин плазмы (5.2.2.13.).
  - Высокомолекулярный кининоген (ВМК) (5.2.2.14.).
- 5.4.2.3. Антиген тканевого активатора плазминогена (t PA).
- 5.4.2.4. Антиген комплекса плазмин-антиплазмин (РАР).
- 5.4.2.5. Продукты деградации фибриногена (фрагменты D).
- 5.4.2.6. Продукты деградации фибрина (D-димер).

5.4.2.7. Продукты деградации фибриногена/фибрина (ПДФ).

5.4.2.8. Растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК) и ранние продукты деградации фибриногена (ПДФ).

5.4.2.9. Альфа-2-антиплазмин:

- активность альфа-2-антиплазмина.
- антиген альфа-2-антиплазмина.

5.4.2.10. Ингибитор активатора плазминогена I (PAI I):

- активность PAI I.
- антиген PAI I. 5.4.2.10.

5.4.2.11. Ингибитор активатора плазминогена 2 (PAI 2):

- активность PAI 2.
- антиген PAI 2.
- Альфа-2-макроглобулин в плазме (5.3.1.7.).
- Альфа-1-антитрипсин в плазме (4.1.5.4.).
- C<sub>1</sub> – ингибитор (5.3.1.8.).

## **5.5. Маркеры внутрисосудистой активации свертывания крови и фибринолиза.**

5.5.1. Антиген фрагментов протромбина 1+2 (F<sub>1+2</sub>).

5.5.2. Антиген комплекса тромбин-антитромбин III (ТАТ).

5.5.3. Производные фибриногена в плазме и сыворотке крови.

5.5.3.1. Антиген фибринопептида А в плазме.

5.5.3.2. Фибрин-мономер в плазме.

- Продукты деградации фибриногена/фибрина (ПДФ) (5.4.2.7.).
- Растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК) в плазме по паракоагуляционным тестам (5.4.2.8.).
- D-димер в плазме и в сыворотке крови.
- РФМК и ранние ПДФ в сыворотке крови (5.4.2.8.).
- Фактор 4 тромбоцитов в плазме (5.1.2.2.).
- α-тромбомодулин в плазме (5.1.2.4.).

## **5.6. Контроль за антикоагулянтной терапией.**

### **Контроль за лечением непрямыми антикоагулянтами.**

- Протромбиновое (тромбопластиновое) время в крови или плазме, выраженное с учетом международного индекса чувствительности тромбопластина (МИЧ) (5.2.1.7.).
- Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ, АПТВ) в плазме (5.2.1.2.).
- Скрининг нарушений в системе протеинов C+S (Глобальный тест, Парус-тест) (5.3.1.3.).

### **Контроль за лечением нефракционированными гепаринами.**

- Время свертывания цельной крови (5.2.1.1.).
- Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) в плазме с реактивом, аттестованным по чувствительности к гепарину (5.2.1.2.).
- АПТВ в плазме до и после сорбции из нее гепарина сорбентом (Гепасорб-2).
- Тромбиновое время плазмы (5.2.1.11.).
- Тромбиновое время плазмы до и после сорбции из нее гепарина сорбентом (Гепасорб-1).
- Антитромбин III (5.3.1.1.):
- прогрессивная активность антитромбина III в плазме после сорбции из нее гепарина сорбентом (Гепасорб-1);
- гепарин-кофакторная активность (коагуляционный и амидолитический варианты).
- Тромбин-гепариновое время в бедной тромбоцитами плазме (5.3.1.10.).

- Динамика содержания растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме в процессе лечения (5.4.2.8.).
- Количество тромбоцитов в крови через 5-6 и 14 дней от начала терапии (2.2.2.1.).

#### **Контроль за лечением препаратами низкомолекулярного гепарина.**

- Ингибитор активности фактора Ха в плазме (5.3.1.9.).
- Динамика содержания растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме в процессе лечения (5.4.2.8.).
- Количество тромбоцитов в крови через 5-6 и 14 дней от начала терапии (2.2.2.1.).

#### **Контроль за лечением гирудином и его препаратами.**

- АЧТВ(АПТВ) (5.2.1.2.).
- Тромбиновое время (5,2.1.11.).
- D-димер (5.4.2.6.).

#### **Контроль за терапией фибринолитиками.**

- Плазминоген (5.4.2.2.).
- Фибриноген (4.1.5.7.).
- Фрагменты D и D-димер (5.4.2.5.; 5.4.2.6.).
- Тканевый активатор плазминогена (t PA).
- Альфа-2-антиплазмин (5.4.2.9.).
- Ингибитор активатора плазминогена I (PAI I) (5.4.2.11.)

#### **Контроль за лечением антиагрегантами тромбоцитов.**

- Агрегация тромбоцитов с применением агонистов АДФ и адреналина (5.1.4.4.3.).
- Количество агрегатов тромбоцитов в крови (5.1.4.4.2.).
- Спонтанная агрегация тромбоцитов (5.1.4.4.1.).

#### **5.7. Комплекс методов диагностики и контроля за лечением двс-синдрома.**

##### **Общие коагуляционные тесты.**

- Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ, АПТВ) (5.2.1.2.).
- Протромбиновое (тромбопластиновое) время (5.2.1.7.).
- Тромбиновое время (5.2.1.11.).
- Фибриноген в плазме (4.1.5.7.).

##### **Определение физиологических антикоагулянтов**

- Антитромбин III (5.3.1.1.).
- Протеин С (5.3.1.4.).
- Маркеры внутрисосудистой активации свертывания крови и фибринолиза (см. раздел 5.5.).
- Клеточные маркеры.
- Фрагментация эритроцитов (в мазке или в градиенте плотности фиколл/ верографин) (2.2.1.6.).
- Количество тромбоцитов в крови (2.2.2.1.).
- Спонтанная агрегация тромбоцитов (5.1.4.4.1.).

## Приложение 2.

### Клиническая характеристика основных типов кровотоочивости по З.С.Баркагану (1975-1988)

**Микроциркуляторный (петехиально-пятнистый или синячковый) тип кровотоочивости** – связан прежде всего с нарушением функции или числа тромбоцитов, легкой формой болезни Виллебранда и с некоторыми редкими нарушениями свертывания крови – гипо- и дисфибриногемии, наследственным дефиците факторов X, II и VII. Характеризуется появлением мелких безболезненных точечных или пятнистых геморрагий на коже, часто сочетающихся с меноррагиями, ювенильными кровотоочениями, кровотоочивость десен, реже с кровоизлияниями в сетчатку глаза и желудочными кровотоочениями. Такие геморрагии легко провоцируются механическим травмированием микрососудов и подтверждаются простыми клиническими пробами – баночной, щипка, жгута, пробой Кончаловского-Румпель-Леде. Наиболее стандартизирована последняя, являющаяся вариантом методики, предложенной Борхгревинком. *Суть ее заключается в следующем: оценка ведется по числу и размерам геморрагий, образовавшихся на верхней части предплечья (в круге диаметром 5 см) после 5-минутного сдавливания плеча манжетой при давлении 90- 100 мм рт.ст. Подсчет проводят через 5 мин после снятия манжеты. Число петехий в круге более 10 указывает на повышенную ломкость микрососудов, что связано с тромбоцитопениями или тромбоцитопатией.* Природа подобного явления связана с одной из важных функций тромбоцитов – ангиотрофической, в соответствии с чем примерно 5-10% от нормальной популяции тромбоцитов ежесуточно элиминируются из кровотока для поддержания жизнедеятельности эндотелиоцитов.

**Второй тип кровотоочивости – гематомный.** Он протекает с болезненными напряженными кровоизлияниями как в мягкие ткани (в мышцы, под апоневрозы, в подкожную и забрюшинную клетчатку, в брюшину и субсерозу кишечника), так и в крупные суставы, с выраженной патологией опорно-двигательного аппарата – и типичен для гемофилии А и В.

**Смешанный (микроциркуляторно-гематомный) тип** – характеризуется сочетанием микроциркуляторной (петехиально-пятнистой) кровотоочивости с появлением отдельных больших гематом (забрюшинных, в стенке кишечника, при геморрагическом инсульте и др). При отсутствии поражений суставов и костей (отличие от гематомного типа) синяки могут быть большими и болезненными. Такой тип кровотоочивости наблюдается при остром и подостром ДВС-синдроме, тяжелом дефиците факторов протромбинового комплекса (механической желтухе, декомпенсации функции печени, передозировке непрямым антикоагулянтам) и фактора XIII, тяжелой степени болезни Виллебранда, при появлении в крови иммунных ингибиторов факторов VIII или IX, при передозировке прямыми и непрямыми антикоагулянтам, тромболитической терапии. В последнем случае может наблюдаться преждевременный лизис тромбов – гемостатические пробки быстро разрыхляются и разрушаются плазмином в местах повреждения сосудов, что ведет к пролонгированию и (или) возобновлению геморрагий, увеличению объема и длительности последних.

При холемии (механической желтухе) характерны кровоизлияния на месте инъекций и в местах расчесов кожи, носовые, десневые и желудочно-кишечные кровотоочения, гематурия. Неожиданное появление кровотоочения может быть связано с наличием невыявленного заболевания, предрасполагающего к кровотоочению (язвы желудка или 12-перстной кишки), бронхоэктаза (кровохарканье, легочное кровотоочение), рака с деструкцией (в ЖКТ, почках, мочевыводящих путях), туберкулеза почек и др.

Кровотечение может возникнуть при сверхвысоком содержании в крови тромбоцитов (свыше  $1500 \times 10^9/\text{л}$ ), что связывается с возникающей при этой патологии недостаточности фактора Виллебранда – синдроме Виллебранда. Данное явление получило название «тромбоцитемический парадокс».

**Васкулитно-пурпурный тип** объединяет геморрагии, обусловленные воспалительными изменениями в микрососудах и в периваскулярной ткани. Наблюдается при инфекционных и иммунных васкулитах и характеризуется появлением на конечностях, на ягодицах и реже на туловище мономорфной папулезно-геморрагической сыпи, имеющей вначале выраженную воспалительную основу, часто определяемой пальпаторно в виде уплотнения или возвышения. При надавливании элементы сыпи не исчезают. Сыпь оставляет после себя длительно сохраняющуюся гиперпигментацию (гемосидероз). В этих случаях возможно присоединение нефрита и кишечных кровотечений, ограниченный процесс может легко трансформироваться в ДВС-синдром.

**Ангиоматозный тип** наблюдается при телеангиоэктазии, ангиомах, и характеризуется упорными строго локализованными и привязанными к локальной сосудистой патологии геморрагиями. Наиболее часто этот тип кровоточивости наблюдается при геморрагической телеангиоэктазии (болезни Рандю-Ослера) и характеризуется очаговым истончением стенок и расширением просвета микрососудов, неполноценным развитием субэндотелия и крайне малого содержания в ней коллагена. Кровоточивость связана с легкой ранимостью сосудистой стенки в локусах ангиэктазии и со слабой стимуляцией в этих участках адгезии и агрегации тромбоцитов. В классическом варианте телеангиоэктазии разграничиваются на 3 типа: 1) ранний в виде небольших неправильной формы пятнышек; 2) промежуточный в виде сосудистых паучков; 3) поздний или узловатый тип в виде ярко-красных узелков диаметром 5-7 мм. Особенность всех этих образований в том, что они бледнеют при надавливании и наполняются кровью после прекращения давления. В подавляющем большинстве случаев геморрагические явления начинаются с носовых кровотечений, имеющих рецидивирующий характер. Другая локализация кровотечения – легочно-бронхиальная, желудочно-кишечная, из мочевых путей и др.

Представляет интерес так называемый «невритический» или психогенный вариант кровоточивости, недавно изученный З.С.Баркаганом и соавт. [29]. Он характеризуется немотивированным появлением геморрагий строго определенной или периодически меняющейся локализации, нередко из таких мест, которые у больных с геморрагическими диатезами никогда не кровоточат. У таких пациентов могут возникать спонтанные кровотечения из обеих ушей и/или обеих ноздрей, из неповрежденных участков кожи на щеках, подбородке, в области надбровных дуг, из сосков молочных желез и др. При обследовании таких кровоточащих участков не удается обнаружить каких-либо дефектов покровов.

*Приложение 3***Классификация основных видов тромбофилий [18,19,17]****Группа I. Гемореологические формы****1. При миелопролиферативных болезнях**

- полицитемии;
- тромбоцитемии.

**2. При полиглобулиях**

- идиопатических (семейных);
- вторичных:
  - а) гипоксических, при артериовенозных шунтах, нефрогенных и др.
  - б) дегидратационных (профузных поносах и других видах потери жидкости)
  - в) при нарушениях физиологической гемодилюции, в том числе при токсикозах беременности.

**3. При нарушениях объема и формы эритроцитов (гемоглобинопатии, ферментопатии и др.).****4. Формы, связанные с гипервискозностью плазмы (парапротеинемии, гаммапатии, гиперфибриногенемия и др.).****Группа II. Формы, обусловленные нарушениями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза****5. Гипертромбоцитозы (первичные, симптоматические, в т.ч. неопластические).****6. Формы с повышенной спонтанной и стимулированной агонистами агрегацией тромбоцитов.****7. Формы, связанные с повышением продукции и полимерности фактора Виллебранда (тромботическая тромбоцитопеническая пурпура и др.).****8. Синдромы вязких (липких) тромбоцитов:**

- генетически обусловленные;
- симптоматические – при других видах тромбофилий, гиперлипидемиях, гипергомоцистеинемии, диабете и др.

**9. Другие неидентифицированные формы.****Группа III. Формы, обусловленные дефицитом или аномалиями физиологических антикоагулянтов****10. Дефицит и аномалии антитромбина III (I, II и III типа)**

- генетически обусловленные;
- вторичные (симптоматические), в т.ч. при ДВС синдроме.

**11. Дефицит и аномалии протеина С (I и II типа)**

- генетически обусловленные (семейные);
- вторичные (симптоматические) формы: при ДВС синдроме, сепсисе, лечении кумаринами и др.;
- избыток ингибитора протеина С.

**12. Дефицит и аномалии протеина S-общего и свободного****13. Дефицит кофактора II гепарина.****14. Гиперпродукция богатого гистидином гликопротеина (БГГП).****15. Комбинированные (смешанные) формы антикоагулянтной недостаточности.****Группа IV. Формы, связанные с дефицитом, гиперпродукцией или аномалиями плазменных факторов свертывания крови****16. Тромбогенные дисфибриногенемии.****17. Симптоматические гиперфибриногенемии.****18. Повышение уровня и активности фактора VII:**

- при гиперлипидемии;
- при гипертромбопластинемии;
- в третьем периоде беременности (гестозе, преэклампсии).

19. Гиперпродукция и повышение уровня в плазме (>150%) фактора VIII (генетически обусловленная форма).

20. Повышение резистентности фактора Va к активированному протеину C:

- наследственные формы (аномалия Лейден и др.);
- симптоматические формы (при антифосфолипидном синдроме, токсикозах беременности и др.).

21. Аномалия фактора II (протромбина) 20210A.

22. Наследственный дефицит фактора XII.

#### **Группа V. Формы, связанные с нарушением фибринолиза**

23. Дефицит и аномалии плазминогена

- генетически обусловленные;
- вторичные (симптоматические), в том числе при тромболитической терапии.

24. Дефицит и нарушения высвобождения из эндотелия тканевого активатора плазминогена (ТАП)

- наследственные формы;
- приобретенные (вторичные) формы.

25. Повышение содержания в плазме ингибиторов ТАП (PAI-1, PAI-2) или  $\alpha_2$ -антиплазмина.

26. Нарушения фибринолиза, связанные с дефицитом фактора XII и компонентов калликреин-кининовой системы (дефекты Флетчера и Фицджеральда-Фложака).

27. Гипофибринолиз, связанный с дефицитом протеинов C и S.

28. Истощение фибринолиза при ДВС-синдроме.

29. Депрессия фибринолиза лекарственного генеза (при лечении тромболитиками, ингибиторами плазминогена и др.).

#### **Группа VI. Метаболические формы**

30. При гиперлипидемиях и атеросклерозе.

31. При диабете и диабетической ангиопатии.

32. При гипергомоцистеинемии (-урии).

- наследственные формы;
- вторичные (приобретенные) формы.

#### **Группа VII. Аутоиммунные и инфекционно-иммунные формы**

33. Антифосфолипидный синдром (АФС):

- первичный;
- вторичный (симптоматический) при аутоиммунных (СКВ и др.), лимфо-пролиферативных и хронических вирусных заболеваниях;
- «катастрофический» АФС.

34. Формы, не связанные с АФС:

- при аллергиях и других иммунных заболеваниях, болезни Бехчета;
- при иммунных и вирусных тромбозах;
- при тромбо-геморрагических лихорадках, включая ТТП и ГУС;
- при бактериальном эндокардите и других видах хронического сепсиса.

#### **Группа VIII. Паранеопластические тромбозы (синдром Труссо и др.)**

35. Дебютные и вторичные тромботические осложнения при всех видах рака (особенно висцеральных его формах), при хирургических и химиотерапевтических вмешательствах.

#### **Группа IX. Ятрогенные (в том числе медикаментозные) формы**

36. При катетеризации и хирургических вмешательствах на сосудах и сердце.

37. При установке кавальных фильтров и протезировании сосудов и клапанов сердца.

38. При трансплантации стволовых костномозговых клеток (вено-окклюзивная болезнь, см. раздел «Нарушения гемостаза при онкогематологических заболеваниях»).

**39. Лекарственные формы, в том числе:**

- при лечении активаторами плазминогена без компенсации последнего;
- при лечении гепаринами (гепариновая тромбоцитопеническая тромбофилия);
- при лечении L-аспарагиназой и полихимиотерапии;
- при лечебно-профилактическом применении гормональных противозачаточных средств;
- при лечении концентратами активированных факторов протромбинового комплекса (ППСБ, ФЕЙБА и др.).

**Группа X. Комбинированные формы тромбофилий**

40. Представлены сочетанием двух и более нарушений, перечисленных в разделах I-IX.

*Приложение 4.***Клинико-лабораторные признаки АФС [33]****При первичном АФС**

- Немотивированные рецидивирующие тромбозы сосудов (чаще вен) у 70-75% больных, в т.ч. ТЭЛА.
- Наличие вирусной инфекции (HbsAg, цитомегаловирусы, вирус Эпштейн-Барр). Расстройства мозгового кровообращения (тромботический инсульт, упорные немотивированные головные боли, нарушения зрения, памяти, парезы, эписиндром).
- Фетоплацентарная недостаточность с невынашиванием беременности (привычные, чаще поздние выкидыши, внутриутробная гибель плода).
- Кровоточивость микроциркуляторного типа (20-25% больных).
- Наклонность к развитию ДВС-синдрома.
- Тромбоцитопения с повышенной агрегацией тромбоцитов.
- Гипокоагуляция крови, особенно в тестах, выполненных на бедной тромбоцитами плазме.
- Ложноположительная реакция Вассермана.
- Наличие сопутствующих признаков других иммунных процессов (артралгии, аллергия к лекарствам, укусам насекомых, пищевым продуктам), не позволяющих отнести выявленную совокупность симптомов к четко очерченной нозологической форме.

**При вторичном АФС**

- Развитие АФС на фоне уже имеющегося иммунного (системная красная волчанка, узелковый периартериит, геморрагический васкулит и др.) или опухолевого (лимфосаркома, лимфогранулематоз, миеломная болезнь) процесса.
- Поливалентная гаптенная лекарственная аллергия.

В соответствии с рекомендациями субкомитета по АФС/ВА Комитета по стандартизации Международной ассоциации по тромбозам и гемостазу (1990-2002) используется следующая трехэтапная лабораторная диагностика АФС по выявлению эффектов аутоантител, обладающих свойствами ВА.



**Основные этиологические формы острого и подострого ДВС-синдрома [20,35,43]**

- Инфекционно-септические:
  - бактериальные;
  - вирусные;
  - токсически-шоковый (в том числе при абортах);
- Травматические и при деструкциях тканей:
  - ожоговый;
  - синдром сдавления;
  - массивные травмы;
  - при некрозах тканей и органов (острая дистрофия печени, некротический панкреатит, ОИМ и др.);
  - при остром внутрисосудистом гемолизе, в том числе при переливаниях несовместимой крови;
  - при травматичных операциях;
  - при массивных гемотрансфузиях;
  - при гемобластозах, прежде всего при остром промиелоцитарном лейкозе;
  - при острой лучевой болезни;
- Акушерские и гинекологические:
  - при эмболии околоплодными водами (особенно инфицированными);
  - при ранней отслойке и предлежании плаценты;
  - при атонии и массаже матки;
  - при внутриутробной гибели плода и его ретенции;
  - при эклампсии;
- Шоковые (при всех терминальных состояниях);
- В процессе интенсивной химиотерапии;
- При трансплантации органов.

В особые группы острых ДВС-синдромов должны быть выделены злокачественная пурпура новорожденных и симметричная периферическая гангрена.

Причинами хронического (затяжного) ДВС-синдрома чаще всего служат следующие виды патологии:

- А. Хроничесепсис, включая затяжной септический эндокардит;
- Б. Хронические иммунные и иммунокомплексные болезни;
- В. Хронические вирусные заболевания (гепатит, ВИЧ и др.);
- Г. Опухолевые процессы – рак, лимфомы, лейкозы и др.

**Основными звеньями патогенеза ДВС-синдрома являются:**

- Начальная активация гемокоагуляционного каскада и тромбоцитов эндогенными факторами – тканевым тромбопластином, лейкоцитарными протеазами, продуктами распада тканей, опухолевыми прокоагулянтами;
- Персистирующая тромбинемия, с повышением уровня ее маркеров в крови, в том числе растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) и D-димера;
- Истощение системы физиологических антикоагулянтов со значительным снижением содержания в плазме АТ III, протеина С, плазминогена и повышением уровня тромбомодулина в плазме крови;
- Системное поражение сосудистого эндотелия и снижение его антитромботического потенциала;
- Образование микросгустков крови и блокада микроциркуляции в органах-мишенях, с развитием дистрофических и деструктивных нарушений в них.

Основными мишенями являются мозг, надпочечники, почки, печень, желудок и кишечник (субсиндром полиорганной недостаточности);

- Активация фибринолиза в зоне блокады микроциркуляции и истощение его резервов в общей циркуляции;
- Потребление факторов гемокоагуляции и тромбоцитопения (и патия) потребления, приводящие к системной кровоточивости и терминальной гипокоагуляции, вплоть до полной несвертываемости крови (геморрагическая фаза синдрома);
- Нарушение барьерной функции слизистой оболочки желудка и кишечника с трансформацией асептического ДВС-синдрома в септический;
- Вторичная тяжелая эндогенная интоксикация.

Для ДВС-синдрома характерен ряд глубоких органических нарушений, обозначаемых как «субсиндромы» [7,20,35], поскольку все они вторичны.

***Важнейшими из субсиндромов при ДВС являются:***

1. Трансформация асептического ДВС-синдрома в септический – закономерность, впервые установленная в трудах З.С.Баркагана [12,15,17,29,35]. По данным нашей клиники эта трансформация чаще всего связана либо с инфицированием мест повреждения тканей, либо с нарушением барьерной функции слизистой оболочки кишечника и массивным проникновением его микрофлоры в кровь. Развитие этого грозного осложнения четко выявляется подскоками температуры тела с ознобами, нарастанием лейкоцитоза и сдвига лейкоцитарной формулы влево, ускорением СОЭ, увеличением содержания в сыворотке крови острофазных белков (С-реактивного) и интерлейкинов.
2. Тромбоцитопения и тромбоцитопатия потребления – нарушение, которое играет существенную роль в развитии тяжелого терминального геморрагического синдрома.
3. Субсиндром легочной (дыхательной) недостаточности. Этот субсиндром возникает зачастую очень рано – в дебюте ДВС-синдрома – и требует немедленного подключения управляемой вентиляции легких, при необходимости раздельного для правого и левого легкого.
4. Субсиндром острой почечной (ОПН) и/или гепаторенальной недостаточности, зачастую требующей подключения к терапии гемодиализа и этапного плазмафереза.
5. Субсиндромы поражения и недостаточности других органов – надпочечников (нестабильная гемодинамика), мозга, сердца и др. Эти нарушения в разных сочетаниях формируют так называемый синдром полиорганной недостаточности, спектр проявлений которого требует гибкого использования в комплексной терапии различных методов коррекции.
6. Особо должен быть выделен субсиндром поражения желудка и кишечника, который включает в себя три различных проявления:
  - 1) образование кровоточащих эрозий и язв (так называемые шоковые или гипоксические язвы, возникающие нередко при ОИМ и многих других видах шока);
  - 2) диффузную кровоточивость слизистой оболочки – пропитывание ее кровью и пропотевание последней в полость кишечника;
  - 3) нарушение барьерной функции слизистой оболочки и появление волны бактериемии с трансформацией асептических форм ДВС в септико-токсические его формы (см. выше).

**Таблица 25.**

**Ингибиторы сосудисто-тромбоцитарного гемостаза [26,34]**

I. Ингибиторы цик-лооксигеназы (COX-1) Основной механизм: блокада образования циклических простагландинов и $\text{TxA}_2$	<ul style="list-style-type: none"> <li>• аспирин (кардиомагнил, тромбоас)</li> <li>• другие нестероидные противовоспалительные средства – индометацин и др.</li> </ul>
II. Ингибиторы тромбоксансинтетазы	<ul style="list-style-type: none"> <li>• сулотробан и др.</li> </ul>
III. Ингибиторы тромбоксансинтетазы и тромбоксановых рецепторов	<ul style="list-style-type: none"> <li>• пикотамид;</li> <li>• ридогрель и др.</li> </ul>
IV. Блокаторы тромбиновых рецепторов тромбоцитов	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ванипрост;</li> <li>• дальтробан</li> </ul>
V. Блокаторы АДФ-рецепторов тромбоцитов	Тиенопиридины: <ul style="list-style-type: none"> <li>• тиклопидин (тиклид);</li> <li>• клопидогрель (плавикс)</li> </ul>
VI. Антагонисты рецепторов $\text{Ib}/\text{IIa}$ тромбоцитов	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Антительные: Абсиксимаб (ReoPro).</li> <li>• Пептидные: Интегрилин и др.</li> <li>• Непептидные: Тирофибан, ламофибан.</li> <li>• Оральные антагонисты рецепторов: фрадафибан</li> </ul>
VII. Стабильные производные простаглицлина	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Инъекционные формы:               <ul style="list-style-type: none"> <li>• илопрост;</li> <li>• вазапостан (простаглицлин <math>\text{E}_1</math>).</li> </ul> </li> <li>• Оральные формы:               <ul style="list-style-type: none"> <li>• берапрост</li> </ul> </li> </ul>
VIII. Препараты комплексного действия и вазопротекторы	<ul style="list-style-type: none"> <li>• пентоксифиллин (трентал);</li> <li>• сульфин-пиразоны;</li> <li>• дипиридабол, курантил;</li> <li>• эндотелон;</li> <li>• миртавен.</li> </ul>

Приложение 7.

Таблица 26.

**Регулирование (подбор) дозы обычного гепарина по АПТВ***(по Cruickchank et al., 1991, с изменениями Hirsh et al., 2001)*

Начальная доза 5000 ЕД в/в струйно (болюс), затем постоянная в/в инфузия, начальная скорость введения из расчета 32 000 ЕД за 24 часа

АПТВ, с	Повторить болюс (ЕД)	Прекратить инфузию на ... (мин)	Изменить скорость инфузии (дозу) мл/час (ЕД/мл/час) при разведении гепарина 40 ЕД/мл	Время следующего измерения АПТВ
Менее 50	5000	0	+3 (120)	6 ч
50-59	0	0	+3 (120)	6 ч
60-85	0	0	0 (0)	Следующее утро
86-95	0	0	-2 (-80)	Следующее утро
96-120	0	30	-2 (-80)	6 ч
Более 120	0	60	-4 (-160)	6 ч

**Примечание:** При использовании АПТВ-реагента активностью в нормальной плазме 27- 35 секунд.

Таблица 27.

**Контроль за лечебным применением обычного гепарина по АПТВ**

(при перфузии – постоянном длительном введении)

*The Sixth (2000) ACCP Guidelines for Antithrombotic Therapy for Prevention and Treatment of Thrombosis (по тексту Российских рекомендаций «Лечение острого коронарного синдрома без стойких подъемов сегмента ST на ЭКГ»)*

Начальная доза	80 ЕД/кг болюс, затем 18 Ед/кг/час
АПТВ < 1,2 чем в нормальной плазме	80 ЕД/кг болюс и увеличить скорость инфузии на 4 ЕД/кг/час
АПТВ от 1,2 до 1,5 нормальной плазмы	40 ЕД/кг болюс и увеличить скорость инфузии на 2 ЕД/кг/час
АПТВ от 1,5 до 2,3 нормальной плазмы	Без изменений
АПТВ от 2,3 до 3,0 нормальной плазмы	Уменьшить скорость инфузии на 2 ЕД/кг/час
АПТВ > 3,0 чем в нормальной плазме	Остановить введение на 1 час, а затем продолжить его, уменьшив скорость введения на 3 ЕД/кг/час

**Таблица 28.**

**Контроль за лечебным применением обычного гепарина по АПТВ**

*The Sixth (2000) ACCP Guidelines for Antithrombotic Therapy for Prevention and Treatment of Thrombosis (по тексту Российских рекомендаций «Лечение острого коронарного синдрома без стойких подъемов сегмента ST на ЭКГ»)*

Обычная дозировка	Метод применения	Время забора крови на исследование	Ожидаемые результаты
400-800 кг/день	Перфузия	Любое время	АПТВ увеличено в 2,0-2,5 раза относительно контроля, концентрация гепарина 0,4-0,6 ЕД/мл
	Внутривенно болюсно	1 час до следующей инъекции	АПТВ увеличено в 1,5-2,0 раза относительно контроля, концентрация гепарина 0,15-0,3 ЕД/мл
	Подкожно 2-4 раза в день	Между 2 инъекциями на пике	АПТВ увеличено в 2,0-2,5 раза относительно контроля, концентрации гепарина 0,4-0,6 ЕД/мл

*Приложение 8.*

Суточная потребность в витамине К:

- для мужчин 19-30 лет – 70 мкг/день, старше 30 лет – 80 мкг/день
- для женщин 19-30 лет – 60 мкг/день, старше 30 лет – 65 мкг/день.

**Таблица 30.**

**Содержание витамина К в продуктах питания**

Продукты питания	Микрограмм в 100 г
Морские водоросли	1700
Зеленый чай	712
Зеленый чай (рассыпной)	710
Масло соевое	542
Зеленая листовая капуста	500
Шпинат	350-415
Розовая капуста	230
Чечевица (сырая)	221
Брокколи	210
Кресс-салат	200
Соевое масло	193
Бобы соевые (сырые)	189
Брокколи	175
Капуста белокочанная (сырая)	148
Яичный желток	147
Брокколи (вареная)	131

Продукты питания	Микрограмм в 100 г
Салат	129
Листовой салат	129
Капуста	125
Печень говяжья	93-104
Масло кукурузное	57
Яйцо	50
Печень куриная	50
Помидоры зеленые	47
Кукуруза	46
Кофе (в зернах)	39
Кофе	38
Проростки пшеницы	35
Сыр	35
Зеленый горошек (отварной)	32
Пшеничная мука грубого помола	30
Сливочное масло	30
Зеленый горошек (сырой)	28
Спаржа (аспарагус) отварная	26
Мед	25
Помидоры красные	22
Клубника	14
Морковь	12
Яйцо	11
Грибы (сырые)	8
Масло кокосовое, пальмовое	7
Овсяные хлопья (сырые)	6
Огурцы	6
Апельсины	5
Молоко 3% жирности	4
Картофель (печеный)	4
Яблоки с кожурой	3
Творог 5% жирности	1
Молоко	0,1-1,0

**Примечание:** Избыточное поступление витамина К с пищей способно нейтрализовать принимаемый варфарин и затруднять подбор его лечебной дозировки.

**Алгоритм стартового лечения варфарином**

*Рекомендации Всероссийской ассоциации по изучению тромбозов, геморрагий и патологии сосудов (Москва, 27-28 марта 2002)*

Дни	МНО (в 9-11 часов)	Дозы варфарина (прием вечером, в 17-19 часов)
День 1	Исходное МНО	5,0 мг
День 2	< 1,5 1,5-1,9 2,0-2,5 >2,5	5,0 мг 2,5 мг 1,0-2,5 мг 0,0 мг
День 3	< 1,5 1,5-1,9 2,0-2,5 >2,5	5,0-10,0 мг 2,5-5,0 мг 0,0-2,5 мг 0,0
День 4	< 1,5 1,5-1,9 2,0-2,5 >2,5	10,0 мг 5,0-7,5 мг 0,0-5,0 мг 0,0
День 5	< 1,5 1,5-1,9 2,0-2,5 >2,5	10,0 мг 7,5-10,0 мг 0,0-5,0 мг 0,0
День 6	< 1,5 1,5-1,9 2,0-2,5 >2,5	7,5-12,5 мг 5,0-10,0 мг 0,0-7,5 мг 0,0

Таблица 32.

**Алгоритм дозирования при продолжительном применении варфарина**

МНО	Корректировка дозы варфарина*	Суточная доза, мг				
		2,5	5,0	7,5	10,0	12,5
		Откорректированная суточная доза, мг				
1,0-2,0	Увеличить 2 дня	5,0	7,5	10,0	12,5	15,0
2,0-3,0	Не изменять	-	-	-	-	-
3,0-6,0	Снизить 2 дня	1,25	2,5	5,0	7,5	10,0
6,0-10,0**	Снизить 2 дня	0	1,25	2,5	5,0	7,5
10,0-18,0**	Снизить 2 дня	0	0	0	0	2,5
>18,0**	Прекращение приема варфарина и госпитализация					

**Примечание:** \* – повторять протромбиновый тест два дня после увеличения или снижения варфарина и использовать МНО. Через два дня после увеличения или снижения дозы перейти к более высокому (или низкому) уровню дозировки;

\*\* – назначить витамин К<sub>1</sub> (2,5-5 мг);

**Таблица 33.****Необходимая частота контрольных измерений МНО**

Этап	Определение МНО
При подборе дозы, в первую неделю	Ежедневно
При стабилизации МНО, в первый месяц	1 раз в неделю
В дальнейшем, со второго месяца приема	1 раз в месяц

*Приложение 10.***Таблица 29.****Место образования свидетелей активации гемостаза и их нормальное содержание в плазме крови (по данным иммуноферментных определений)****Маркеры активации свертывания крови**

Молекулярный маркер	Место образования	Ориентировочные значения нормы <sup>1</sup> (изменение уровня при активации гемостаза)
Тканевый фактор (TF)	Эндотелий, макрофаги и др. клетки	147 ± 17 пг/мл (повышение)
Фрагмент протромбина 1+2 (F <sub>1+2</sub> )*	Плазма	0,57 ± 0,33 нг/мл (повышение)
Фибринпептид А (FPA)	Плазма	2,0 ± 0,6 нг/мл (повышение)
Фибрин-мономер или белок, предшествующий тромбу (TrP)	Плазма	0,99 ± 0,27 мкг/мл (повышение)
Растворимый фибрин (SF) или растворимые фибрин-мономерные комплексы (SFMC)*	Плазма	3,38 ± 0,02 мг/100 мл <sup>2</sup> (повышение)
Комплекс тромбин-антитромбин III (TAT)*	Плазма	2,1 ± 1,3 нг/мл (повышение)

**Маркеры активации свертывания крови, фибринолиза и фибриногенолиза**

Тканевый активатор плазминогена (t-PA)	Эндотелий	3,1 ± 1,3 нг/мл (повышение)
Продукты деградации фибриногена (FnDP)	Плазма	247 ± 27 нг/мл (повышение)
Продукты деградации фибрина (FDP)*	Плазма	232 ± 24 нг/мл (повышение)
D-димер (продукт лизиса поперечносшитого фактором XIIIa фибрина)*	Плазма	163 ± 54 нг/мл (повышение)
Комплекс плазмин-антиплазмин (РАР)	Плазма	< 8 нмоль/л (повышение)
Пептиды, родственные Bβ 15-42 фибриногена	Плазма	1,9 ± 1,2 нг/мл (повышение)
Комплекс t-PA – PAI	Плазма	2,8 ± 1,6 нг/мл (повышение)

<sup>1</sup> Нормы даны для иммуноферментных определений искомого показателя в плазме крови<sup>2</sup> По данным орто-фенантролинового теста



### Маркеры активации тромбоцитов

Фактор 3 тромбоцитов (PF3) – микровезикулы из плазматической мембраны клеток, со средним диаметром 0,2 мкм	Тромбоциты, возможно происхождение из эритроцитов, эндотелия и др. клеток крови	78,6 $\pm$ 18,6 нкат/л <sup>1</sup> (повышение)
Фактор 4 тромбоцитов (PF4), антигепариновый*	$\alpha$ -Гранулы тромбоцитов	5,2 $\pm$ 2,6 нг/мл (повышение)
$\beta$ -Тромбоглобулин ( $\beta$ -TG)*	$\alpha$ -Гранулы тромбоцитов	18 $\pm$ 10 нг/мл (повышение)
Тромбоксан B <sub>2</sub> (TxB <sub>2</sub> )	Тромбоциты	90 $\pm$ 20 пг/мл в моче (повышение)
Тромбоцит-активирующий фактор (PAF)	Клетки крови и эндотелий	< 10 нмоль/л (повышение)

### Маркеры повреждения эндотелия сосудов

Фактор Виллебранда в плазме (vWF)*	Эндотелий, мегакариоциты	> 25 мкг/мл (повышение)
Ингибитор тканевого активатора плазминогена (PAI-1)*	Эндотелий	1,4 $\pm$ 0,7 нг/мл (повышение)
Тканевый активатор плазминогена (t-PA)*	Эндотелий	3,1 $\pm$ 1,3 нг/мл (снижение)
Ингибитор тканевого пути свертывания (TFPI)	Эндотелий	43 $\pm$ 11 нг/мл
Эндотелин 1*	Эндотелий	307 $\pm$ 72 пг/мл (повышение)
Растворимый тромбомодулин (ST)*	Эндотелий	5,22 $\pm$ 2,63 нг/мл (повышение)
Простациклин [6-Кето-простагландин F1 $\alpha$ (PGF1 $\alpha$ )]	Эндотелий	90 $\pm$ 20 пг/мл (снижение)

**Примечание:** \* – наиболее часто определяемые и долгоживущие маркеры. Материалы приведены в соответствии с данными Д.М.Зубаирова [51], с дополнениями.

<sup>1</sup> в единицах активности фермента 5' – нуклеотидазы

## Список литературы

1. Авдеева Н.А., Калинин Н.Л. Контроль антикоагулянтной терапии. // Лаборатория. – 1998. – № 9. – С. 10-11.
2. Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов И.И., Тлепуков И.К. Физиология системы гемостаза. – М., 1995. – 244 с.
3. Баркаган З.С. Исследование системы гемостаза в клинике. – Барнаул, 1975.
4. Баркаган З.С., Бишевский К.М. Физиологические антикоагулянты. Современные представления о составе, функции и клиническое значение. // Лабор. дело. – 1978. – № 10. – С. 579-586.
5. Баркаган З.С., Лычев В.Г., Бишевский К.М. Современные проблемы диагностики и патогенетической терапии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. // Тер. архив, 1979. – № 9. – С.11-18.
6. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. – М., Медицина. – 1980. – 336 с.
7. Баркаган З.С. Руководство по гематологии, под ред. А.И.Воробьева. М.: Медицина, 1985. – Т.2. – С. 201-248)
8. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы, М., Медицина, 1988. – 528 с.
9. Баркаган З.С. Тромбогеморрагический синдром. БМЭ, изд. 3. – 1988. – С.527-530.
10. Баркаган З.С. Общие принципы исследования системы гемостаза и анализ новых методов выявления внутрисосудистого свертывания крови. //Тер.архив, 1988. – № 5. С. 104-110.
11. Баркаган З.С. Общие принципы исследования системы гемостаза и анализ новых методов выявления внутрисосудистого свертывания крови. // Терапевтический архив, 1989, N5, с. 104-110.
12. Баркаган З.С., Лычев В.Г. Распознавание синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания: методология и экспертная оценка. // Лаб.дело, 1989. – № 7. – С. 30-35.
13. Баркаган З.С., Лычев В.Г., Делекторская Л.Н., Елыкомов В.А., Момот А.П., Тамарин И.В. и др. Новые методы лабораторной диагностики диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома): Методические рекомендации МЗ СССР – М., 1989. – 26 с.
14. Баркаган З.С., Шойхет Я.Н. Обоснование, тактика применения и эффективность криоплазменно-антиферментной терапии при сепсисе и инфекционно-деструктивных процессах. // Гематология и трансфузиология, 1989, №10. – С. 8-12.
15. Баркаган З.С. Лечение синдрома диссеминированного свертывания крови. // Справочник практического врача под редакцией А.И.Воробьева. – М.- Медицина, 1990. – т. 1. – С.71-74.
16. Баркаган З.С., Сердюк Г.В. Невынашивание беременности и мертворождаемость при нарушениях в системе гемостаза. // Гематол. и трансфузиол. – 1991. – № 4. – С. 3-5.
17. Баркаган З.С. Узловые вопросы комплексной терапии острого и подострого ДВС-синдрома. // Вестн. интенсив. терапии. – 1992. – № 1. – С. 11-17.
18. Баркаган З.С. Классификация и методология распознавания тромбофилий / Патология гемокоагуляции. II научн. сессия "Тромбозы, геморрагии, ДВС-синдромы. Современное состояние проблемы". М., 1995. – С. 19-20.
19. Баркаган З.С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий. // Проблемы гематологии и переливания крови – 1996. № 3. С. 5-15.

20. Баркаган З.С. Патогенез, диагностика и принципы терапии ДВС-синдрома. // *Materia Medica* – 1997. – № 1 (13). – С. 5-14.
21. Баркаган З. С., Котовщикова Е.Ф. Причины успеха и неудач применения аспирина при ишемической болезни сердца. В кн.: Прогресс и проблемы в лечении заболеваний сердца и сосудов. Материалы юбилейной конф. С.-П. университета. – С.-Петербург, 1997. – С. 8.
22. Баркаган З. С. Клиническое значение и проблемы лечения больных с индуцируемой гепарином тромбоцитопенией. // *Тер. архив*, 1999. –Т. 71. – № 7. С. 72-76.
23. Баркаган З. С., Момот А. П. К методике индивидуального контроля за достаточностью антикоагулянтной профилактики и терапии. // *Клин. лаб. диагн.*, 1999. – № 10.- С. 46-47.
24. Баркаган З. С., Момот А. П. Основы диагностики нарушений гемостаза. – М.: Ньюдиамед, 1999. – 217 с.
25. Баркаган З.С., Момот А.П. Классификация и основы диагностики гематогенных тромбофилий. // *Клиническая лабораторная диагностика*. 1999. – №10. – С.38.
26. Баркаган З. С. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии. М., 2000. – 142 с.
27. Баркаган З.С. Учение о тромбофилиях на современном этапе. // *Консилиум*, 2000. – № 6. – С. 61-65.
28. Баркаган З.С., Момот А.П. О мониторингировании антикоагулянтной терапии у больных пожилого и старческого возраста. *Клин. геронтол.* – 2000. – Т. 6. – № 3-4. – С. 47-53.
29. Баркаган З.С., Белых В.И., Моисеева Н.В. Невритическая кровоточивость и нераскрытые механизмы регуляции системы гемостаза. // *Терапевтический архив*. – 2001. – № 73(5). – С. 45-48.
30. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: Ньюдиамед, 2001.- 296 с.
31. Баркаган З.С., Момот А. П., Котовщикова Е. Ф. и др. Выбор препаратов и мониторинг эффективности антитромботических средств. // В кн: Острый коронарный синдром: проблемы патогенеза, профилактики, диагностики, классификации, терапии. Томск, 2001. – С. 192-194.
32. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозмболий антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг): Методические указания – М.: Издательство «Ньюдиамед», 2003. – 48 с.
33. Баркаган З.С., Момот А.П., Сердюк Г.В., Цыпкина Л.П. Основы диагностики и терапии антифосфолипидного синдрома. – М.: Издательство «Ньюдиамед», 2003. – 48 с.
34. Баркаган З.С. Формулярная система (Федеральное руководство по использованию лекарственных средств Вып. V) / под ред. А.Г. Чучалина, А.И. Вялова, Ю.Б. Белоусова, В.В.Яснецова.. М., 2004. – с. 100-115. Раздел 2.1.10. Антитромботические средства. Раздел 13.2, 13.3. – С. 524-537. (944 с.).
35. Баркаган З.С., Момот А.П., Цыпкина Л.П. Современные аспекты патогенеза и терапии острого ДВС-синдрома. *Сибирский консилиум*, 2004. – №6 (35). – С. 35-39.
36. Баркаган Л.З. Нарушение гемостаза у детей. – М.: Медицина, 1993. – 176 с.
37. Бокарев И.Н. ДВС-синдром, современные представления и проблемы. // *Клиническая медицина*. – 1992. – N 2.- С. 109-113.
38. Бокарев И.Н., Бокарев М.И. Тромбофилии, венозные тромбозы и их лечение. *Клиническая медицина*. – 2002. – № 5. – С. 4-8.

39. Вавилова Т.В. Лабораторная диагностика коагулопатий в практике акушера-гинеколога. //Медтехника и медизделия. – 2004. – № 1(18). – С. 57-62.
40. Вавилова Т.В. Автореферат на соиск. ученой степени доктора мед. наук – Система гемостаза у больных с механическими искусственными клапанами сердца. – С.-Петербург, 2004.
41. Вавилова Т.А., Полежаев Д.А., Гриценко В.В. Профилактика тромбозов и тромбоземболических осложнений у больных с отечественными механическими искусственными клапанами сердца «Меринж-2» в отдаленные сроки наблюдения. // Вестник хирургии им. Грекова. – 2003. – № 6. – С. 51-56.
42. Васильев С.А., Воробьев А.И., Городецкий В.М. Протокол диагностики и лечения острого ДВС синдрома. //Пробл. гематол. и перелив. крови, 1999. – №3. – С. 40-44.
43. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулуто Е.М., Васильев С.А. Острая массивная кровопотеря. – М.: ГОЭТАР-МЕД, 2001. – 176 с.
44. Воробьев П.А., Горохова С.Г., Дворецкий Л.И., Желнов В.В., Момот А.П., Цурко В.В., Яковлев С.В. – Лабораторная и инструментальная диагностика. Спутник интерниста. – М.: Ньюдиамед, 2002. – 288 с.
45. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний /Под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П.Папаян. С.-Петербург, 1999, 121 с.
46. Грицюк А.И. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови в терапевтической клинике и его диагностика. // Врачебное дело. – 1987. – № 3. – С. 7-13.
47. Дементьева И.И., Еременко А.А., Леонова С.Ф., Михайлов Ю.М., Ройтман Е.В. Разработка компьютерного алгоритма для диагностики тромбогеморрагических осложнений у кардиохирургических больных в раннем послеоперационном периоде // Итоги. М.: РНЦХ РАМН. 1998. С.212-218.
48. Добровольский А.Б., Косырев А.Б. Протромбиновый тест: Методика выполнения и клиническое значение. // Ассоциация медицинской лабораторной диагностики. Информационный бюллетень. – 1995. – № 2. – С. 34-38.
49. Дугина Т.Н. МНО протромбинового теста: клиническое значение и применение. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 2. – С. 42-45.
50. Зубаиров Д.М. Общие рекомендации к лабораторной работе при изучении свертываемости крови. //Клинич. лабор. диагностика, 1998. – № 7. – С. 9-11.
51. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: Фэн, 2000. – 364 с.
52. Иванов Е.П. Диагностика нарушений гемостаза. – Минск, 1983. – 222 с.
53. Иванов Е.П. Руководство по гемостазиологии: (Норма и нарушение функции системы гемостаза, клиничко-лаб. диагностика кровотечений, тромбозов и ДВС-синдрома.). – Минск.: Беларусь, 1991. – 302 с.
54. Исследование системы крови в клинической практике. /Под редакцией Г.И.Козинца и В.А.Макарова. – М.: Триада-Х, 1997. – С. 373-413.
55. Капустин С.И., Шмелева В.М., Паншина А.М., Филановская Л.И., Блинов М.Н., Папаян Л.П. Генетическая предрасположенность к венозному тромбозу: роль полиморфизмов компонентов плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза. // Ученые записки СПбГМУ им. Акад. И.П.Павлова, 2004 – Т. XI. – № 3. – Приложение – С. 10-15.
56. Козлов А.В., Карягина И.Ю., Морозова О.С., Балябина М.Д., Капитонова З.Д.: Влияние лекарственных препаратов на лабораторные показатели. Учебное пособие для врачей-слушателей, С.-Петербург, 1997. – 35 с.
57. Костюченко Г.И., Баркаган З.С. Диагностика и методы коррекции гипергомоцистеинемии в кардиологической практике: Пособие для врачей – М., 2004. – 20 с.

58. Котовщикова Е.Ф. Диагностика и коррекция нарушений агрегационной функции тромбоцитов у больных с тромбофилиями различного генеза и гемофилией с синдромом мезенхимальной дисплазии: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Барнаул, 1998.
59. Котовщикова Е.Ф., Баркаган З.С. Тиенопиридиновые антиагреганты в комплексной терапии и профилактике тромбозов и тромбофилий. // Патол. кровообращения и кардиохирургия, 2001. – № 1. – С. 89-93.
60. Кузник Б.И. Физиология и патология системы крови. – Чита, 2004. – 336 с.
61. Лабинская Т.А. Принципы лабораторной диагностики тромбофилий. // Лаборатория. – 1997. – № 8. – С. 6-8.
62. Летаген С. Гемостаз и геморрагические заболевания /Пер. с англ. – М.: Аир-Арт, 2004. – 82 с.
63. Лычев В.Г. Диагностические критерии ДВС-синдрома и их обоснование с помощью современных математических методов // Тер. арх. – 1985. – № 9. – С.124-129.
64. Лычев В.Г. / Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови.- М., – 1993. – 160 с.
65. Лычев В.Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. – Н.-Новгород: Мед. Кн.-НГМА, 1998. – 188 с.
66. Макаров В.А. Разработка новых методов диагностики и лечения нарушений гемостаза. // Проблемы физиологии и патологии системы гемостаза, под ред. А.И.Воробьева, З.С.Баркагана, Барнаул, 2000. – С. 35-38.
67. Макацария А.Д., Бицадзе О.В. Тромбофилические состояния в акушерской практике. /М.: 2001. – 703 с.
68. Макацария А.Д., Мищенко А.Л., Бицадзе В.О., Маров С.В. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови в акушерской практике. Триада-Х, 2002. – 496.
69. Мамаев А.Н. Классификационные признаки коагулометров // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – № 10. – С.32
70. Мамаев А.Н. Классификационные признаки приборов, регистрирующих коагуляцию. // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2004. – №3. – С.78.<sup>1</sup>:
71. Мачабели М.С. Коагулопатические синдромы. – М.: Медицина, 1970 – 304 с.
72. Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы). Справочник / под ред. А.И.Карпищенко, С.-Петербург, Интермедика, 2001, 544 с.
73. Меньшиков В.В., Макарова Н.А., Еланцева Е.В. Влияние принимаемых пациентом лекарств на результаты клинико-лабораторных тестов. Пособие для врачей. – М.: Издательский дом «Русский врач», 2003. – 130 с.
74. Момот А.П., Соколов Э.А., Цеймах И.Я. Значение элиминации из плазмы гепарина для оценки коагулограммы и активности антитромбина III. //Клинич. лаб. диагностика. – 1995. – № 5. – С. 31-34.
75. Момот А. П., Елыкомов В. А., Баркаган З. С. Методика и клиническое значение паракоагуляционного фенантролинового теста. // Клин. лаб. диагностика, 1996. – № 4. – С. 17-20.
76. Момот А.П., Баркаган З.С. К методике индивидуального контроля за достаточностью антикоагулянтной профилактики и терапии. //Клиническая лабораторная диагностика. – № 10. – 1999. – С.46-47.
77. Момот А.П. Современные проблемы обеспечения качества диагностики

---

<sup>1</sup>- дополнительная информация по характеристикам отдельных импортных коагулометров может быть получена по адресу: [www.coagulometers.ru](http://www.coagulometers.ru)

- нарушений системы гемостаза. "Актуальные вопросы лабораторной диагностики. Проблемы диагностики и лечения нарушений гемостаза": материалы конференции 24 мая 2001. – Барнаул, 2001. – С. 29-38.
78. Момот А.П. Современные принципы, методы и средства лабораторной диагностики патологии гемостаза. Возможности отечественных лабораторий. // Клиническая лабораторная диагностика. – № 9. – 2003. – С. 32.
79. Момот А.П. Принципы диагностики основных видов патологии гемостаза. // Омский научный вестник. Приложение к выпуску 24, октябрь, 2003. – С. 122-123.
80. Момот А.П. Принципы, методы и средства лабораторной диагностики патологии гемостаза на современном этапе. // Лабораторная диагностика (Киев). – № 2. – 2004. – 52-70.
81. Морозов Ю.А. Тест генерации тромбина в клиническом мониторинге системы гемостаза. // Тромбоз, гемостаз и реология, 2003. – № 4(16). – С. 30-35.
82. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Управление качеством лабораторных исследований. – М.: Медицина, 2001. – 360 с.
83. Ольбинская Л.И., Гофман А.М. /Лечение и профилактика тромбозов. – М.: Вагриус, 2000. – 196 с.
84. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Профилактика тромбозэмболии легочной артерии при хирургических и иных инвазивных вмешательствах» – М.: «Ньюдиамед», 2004. – 64 с.
85. Панченко Е.П., Добровольский А.Б. / Тромбозы в кардиологии. Механизмы развития и возможности терапии. – М.: «Спорт и культура». – 1999. – 464С.
86. Папаян Л.П., Кобилянская В.А., Папаян К.А. Патогенез и проблемы диагностики тромбофилии // В сб. Лабораторные аспекты диагностики нарушений гемостаза/ под ред. Н.Н.Петрищева, Л.П.Папаян. – С.-Петербург, 1988. – С. 3-12.
87. Папаян Л.П., Блинов М.Н., Каргин В.Д. и др. Методы диагностики АПС-резистентности, обусловленной мутацией гена фактора V: Пособие для врачей – С.-Петербург, 2001. – 20 с.
88. Папаян Л.П., Кобилянская В.А., Шитикова А.С. Общие принципы диагностики антифосфолипидного синдрома. // Ученые записки СПбГМУ им. Акад. И.П.Павлова, 2004 – Т. XI. – № 3. – Приложение – С. 59-62.
89. Патрушев Л.И. Тромбофилические состояния и современные методы их диагностики. Русский медицинский журнал, 1988, № 6. – С. 15-21.
90. Ройтман Е.В. Гемореология при операциях на сердце и магистральных сосудах с применением искусственного кровообращения: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – М., 2003.
91. Салтыкова Н.Б., Каргин В.Д. Особенности клинических проявлений и принципы терапии больных врожденными тромбофилиями. Ученые записки СПбГМУ им. Акад. И.П.Павлова, 2004 – Т. XI. – № 3. – Приложение – С. 62-68.
92. Сидоренко Г.И. Мойсенко А.Г., Колядко М.Г. и др. Роль гомоцистеина в тромбозах и атерогенезе. Возможности и перспективы витаминной коррекции // Кардиология, 2001. – № 3. – С. 56-61.
93. Смоляницкий А.Я., Якунин Г.А., Еникеева Д.А. Современные подходы к лабораторному контролю за гепаринотерапией. // Лаборат. дело. – 1988. – № 2. – С. 3-7.
94. Управление качеством клинических лабораторных исследований (Под ред. В.В.Меньшикова). М.: Лабпресс, – 2000. – С. 104-109.
95. Шитикова А.С. Изменения формы тромбоцитов как показатель их внутрисосудистой активации. /Клинико-лабораторная диагностика предтромботических состояний. – С.-Петербург, 1991. – С. 38-52.

96. Шитикова А.С. Механизм действия ацетилсалициловой кислоты на процессы гемостаза. // Медицинский академический журнал. – 2003. – № 1. – С. 23-35.
97. Шитикова А.С. Механизмы нарушения гемостаза при антифосфолипидном синдроме. // Ученые записки СПбГМУ им. Акад. И.П. Павлова, 2004 – Т. XI. – № 3. – Приложение – С. 47-59.
98. Шиффман Ф.Д. Патофизиология крови. Пер. с англ. – М. – СПб.: «Издательство БИНОМ» – «Невский диалект», 2000. – 448 с.
99. Шмелева В.М. Гипергомоцистеинемия и тромбоз. // Тромбоз, гемостаз и реология, 2000. – № 4. – С. 26-29.
100. Asherson R.A., Cervera R. The catastrophic antiphospholipid syndrome: A review of pathogenesis, clinical features and treatment. // J. AMI, 2002. – V. 2. – P. 268-273.
101. Diagnosis of Thrombotic Disorders. A Laboratory Manual. ISTH & Christian Medical College, Vellore, India, November 2002, 103 P.
102. Hemker H.C., Wielders S., Kessels H., Beguin S. Continuous registration of thrombin generation in plasma, its use for the determination of thrombin potential. // Thromb. Haemost. – 1993. – Vol. 70. – P. 617-624;
103. Hirsh J., Fuster V., Ansell J., Halperin J.L. American Heart Association/American College of Cardiology Foundation Guide to Warfarin Therapy. // Circulation, 2003. – P. 1692-1711.
104. King D.J., Kelton J.G. Heparin associated thrombocytopenia. Ann. Intern. Med. 1984; 100: 535-540.
105. Kodle H.-J. Haemostasis. Physiology, pathology, diagnostics. – Pentapharm Ltd., Basel/Switzerland, 2001. – 138 p.
106. Mammen E.F. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами. // Лаборатория. – 1997. – № 7 – С.10-12.
107. Mueller M.R., Salat A., Stangl et al. Variable platelet response to lowdose ASA. Thromb. Haemost. – 1997. – V. 78. – P. 1003-1007
108. Regnault V., Beguin S., Lecompte T. Calibrated automated thrombin generation in frozen-thawed platelet-rich plasma to detect hypercoagulability. // Pathophysiol. Haemost. Thromb. – 2003. – V. 33. – P. 23-29.
109. Triplett D.A. Coagulation Assay for the lupus anticoagulant: Review and critique of current methodology. // Stroke, 1992. – Vol. 23. – №2. – P.11-14.
110. WHO Expert Committee on Biological Standardisation. 33rd Report Tech. Rep. Ser. 687. – P.81-105, Geneva: WHO. – 1983.
111. Zimmerman N., Kienzle P., Winter J. et al. Aspirin resistance after coronary artery bypass grafting. // J. Thorac. Cardiovascular. Surg. – 2001. – V. 121. – P. 982-984)

