

# Работа на автоматических коагулометрах с использованием реагентов отечественного производства

## Автоматические коагулометры Sysmex серия CA-1500



Методическое руководство

Авторы: Козлов А.А., Берковский А.Л., Сергеева Е.В.,  
Кишинец Р.С., Бабенко С.В., Тихомирова К.В.

Работа на автоматических коагулометрах Sysmex серии  
СА-1500 с использованием реагентов торговой марки  
«Ренам»

## Методическое руководство

Нередки случаи ложных результатов клинических лабораторных исследований, что обусловлено в большинстве случаев ошибками на преаналитическом этапе. Однако достаточно часто наблюдаются ошибки и на аналитическом этапе исследования системы гемостаза. Некоторых ошибок на данном этапе позволяет избежать применение автоматических коагулометров. Известно, что производители коагулометров рекомендуют применение реагентов определенного производителя. Но зачастую возникают ситуации, при которых лаборатория остается без вышеуказанных реактивов (недостаточность финансирования лаборатории, задержка в поставках рекомендуемых реактивов). Все это приводит к поиску альтернативных источников реагентов с целью бесперебойной работы лаборатории без потери качества коагулологических исследований.

Данное методическое руководство предназначено для сотрудников клинико-диагностических лабораторий, исследующих систему гемостаза. В руководстве детально описаны принципы адаптации реагентов торговой марки «РЕНАМ» к приборам серии СА-1500

<b>Рутинные исследования:</b> .....	4
Определение протромбинового времени (PT) .....	4
Определение активированного частичного тромбопластинового времени (APTT) .....	15
Определение уровня фибриногена по Клауссу (Fib C) .....	21
Определение тромбинового времени (TT) .....	34
<b>Первичные физиологические антикоагулянты:</b> .....	39
Определение активности антитромбина III оптическим методом (AT3) .....	39
<b>Факторы свертывания крови:</b> .....	47
Определение активности VIII фактора свертывания крови (Factor VIII) .....	47
Определение активности IX фактора свертывания крови (Factor IX) ..	51

## **Рутинные исследования:**

### **Определение протромбинового времени (РТ)**

Серия приборов СА-1500 является открытой системой для постановки на них реагентов, отличающихся от рекомендованных производителем приборов. Для оценки протромбина по Квику и МНО с помощью коагулометра Sysmex СА-1500 НПО РЕНАМ рекомендует использовать Ренампластин (кат. № ПГ-5/1).

В качестве калибровочной плазмы рекомендуется использовать плазму-калибратор «Протромбин-калибратор» (кат. № КМ-18). Также возможно использование плазмы-калибратора «Мультикалибратор» (кат. № КМ-16)

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма Н» (кат. № КМ-1), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной области.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма патологическая» (кат. № КМ-3).

Для контроля за применением непрямых антикоагулянтов (определение МНО) рекомендуется применять контрольную плазму «Протромбин-контроль» (кат. № КМ-17)



## Пример инструкции к реагенту Ренампластин

Стандартизованный по Международному Индексу Чувствительности реагент для определения протромбинового времени.

Определение протромбинового времени – это высокочувствительный и простой скрининговый тест, который выявляет нарушения во внешнем пути свертывания крови (ф. II, V, VII и X) и рекомендуется для:

- мониторинга терапии непрямыми антикоагулянтами;
- диагностики наследственных и приобретенных коагулопатий;
- диагностики заболеваний печени.

Ренампластин – тромбопластин-кальциевый реагент, водорастворимый, полученный из мозга кроликов и аттестованный по Международному Индексу Чувствительности (МИЧ), предназначен для определения протромбинового времени в плазме венозной крови. Результаты определения могут быть выражены в значениях Международного Нормализованного Отношения (МНО), протромбина по Квику и протромбинового индекса.

### Реагент

Ренампластин (8 мл) – код ПГ-5/1.

### Принцип метода

При добавлении к цитратной плазме избытка тканевого тромбопластина и ионов кальция время образования сгустка фибрина зависит только от активности факторов внешнего и общего пути коагуляции: I, II, V, VII, X. Измеряют время от момента добавления к плазме тромбопластина с кальцием до момента образования фибринового сгустка.

### Приготовление и стабильность

**Ренампластин.** Внести во флакон с лиофильно высушенным Ренампластином **8** мл дистиллированной воды и растворить при покачивании.

Перед проведением анализа прогреть при 37°C в течении 30 мин.

### Стабильность Ренампластина

+37°C	+18-25°C	+2-8°C	-18-20°C
8 часов	2 дня	7 дней	3 месяца

### **Получение исследуемой плазмы для анализа**

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия, центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Время хранения образцов плазмы при комнатной температуре – не более 4 часов, не допускается хранение образцов при +2-8°C до проведения анализа в связи с возможностью холодной активации ф. VII. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

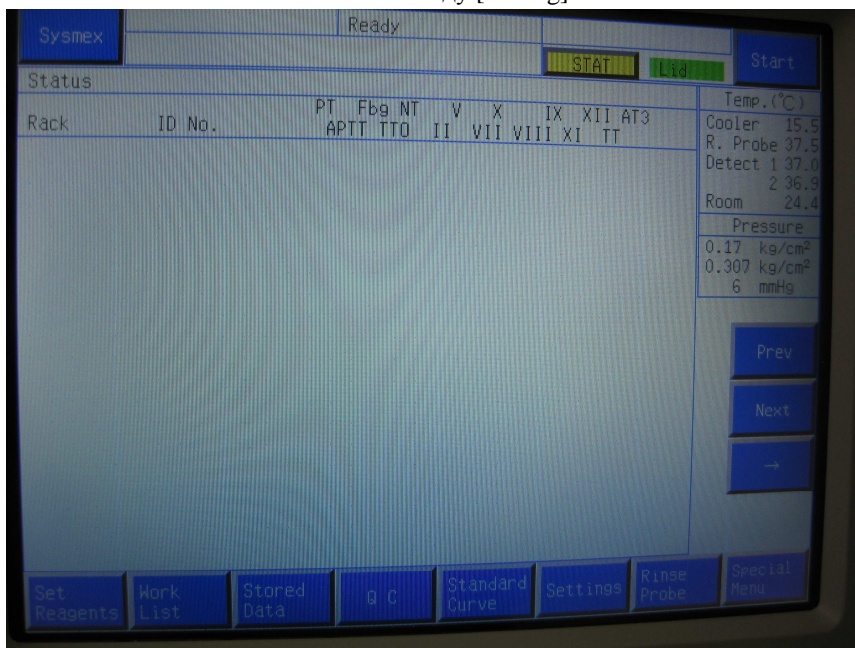
### **Меры предосторожности**

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

## Программирование прибора

1. В окне «Main Menu» нажать команду [Setting].

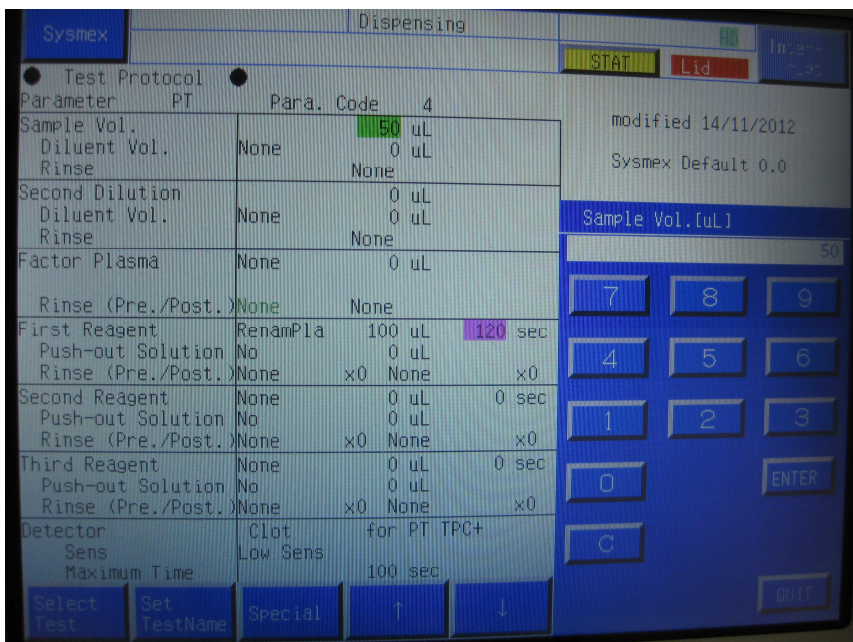


2. В окне «Setting» выбрать [Analysis Setting].

3. В окне «Analysis Setting» нажать [Test Protocol].

4. В окне «Test Protocol» выбрать тест [PT].

5. Внести в таблицу Протокола теста следующие изменения (выделено на примере):

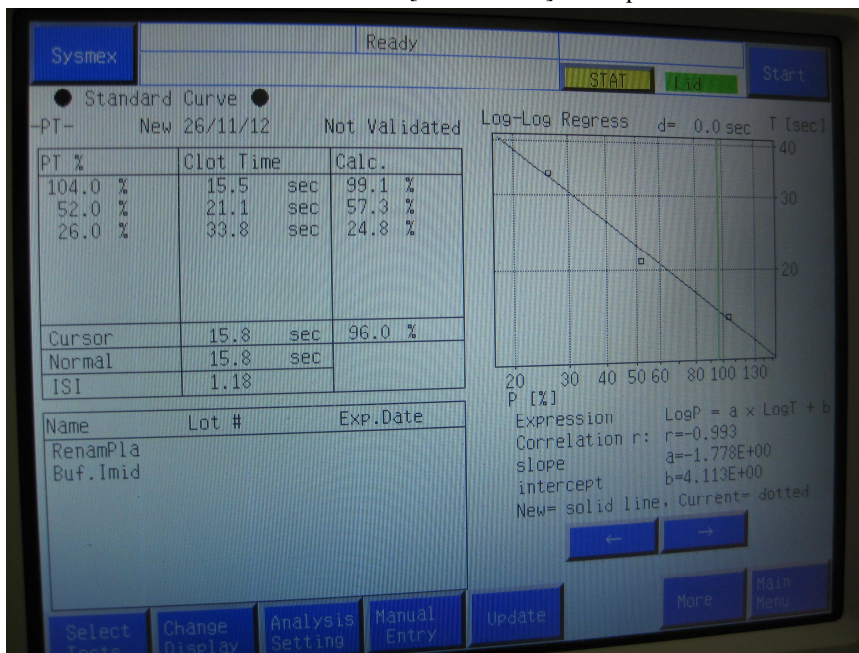


Вводимые значения каждый раз подтверждать нажатием [Enter].  
 Для перехода по строкам таблицы использовать стрелки курсора.  
 По окончании заполнения таблицы выйти из окна «Test Protocol» нажатием [Quit].  
 В окне «Test Protocol. Renew Settings?» подтвердить внесенные изменения нажатием [FIX]. Можно продолжить редакцию протокола теста при нажатии на клавишу [Continue], либо вернуться в предыдущее окно без запоминания изменений, нажав [Cancel].

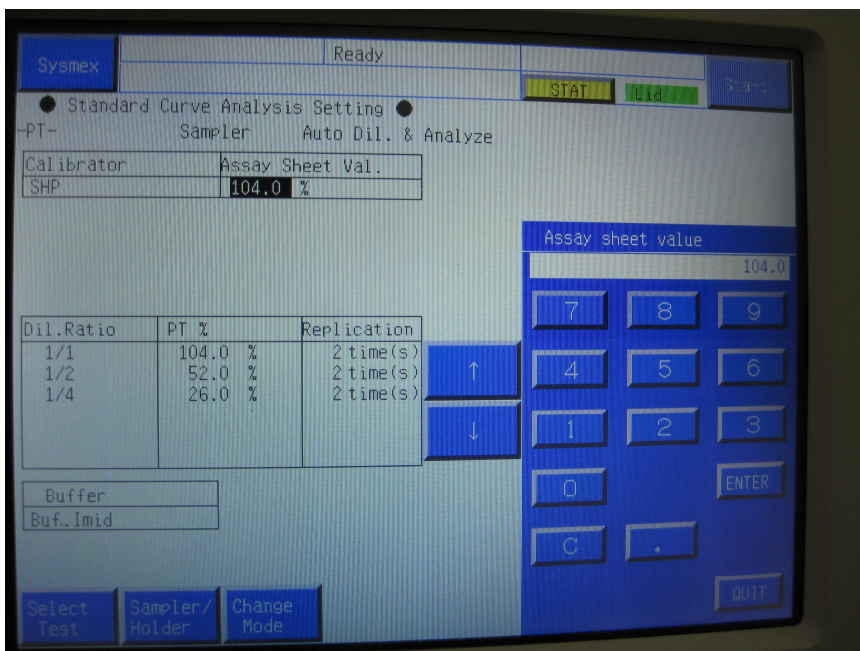
В качестве реагента PT THS выступает Ренампластин. На вышеуказанном рисунке (примере) реагент для удобства был переименован в RenamPla. На борту нужно использовать позицию, которая запрограммирована для PT-THS, либо задать свое место и объем реагента в меню Set Reagent.

## Построение калибровочной кривой

1. После внесения изменений в протокол теста на Протромбиновое время вернуться в окно «Main Menu».
2. В окне «Main Menu» выбрать [Standard Curve].
3. В окне «Standard curve» нажать [Select Tests] и выбрать тест PT.



4. Задать параметры построения калибровочной кривой: в автоматическом режиме, нажав [Analysis Setting], либо в ручном режиме [Manual].
5. В автоматическом режиме в выделенной строке установить значение протромбинового времени в % по Квику, указанное в паспорте к плазме-калибратору и выбрать режим разведения плазмы-калибратора, нажав [Dil. Ratio] (например, 100%, 50%, 25%).



Значение МИЧ реагента (ISI) устанавливается нажатием на клавишу [Manual Entry] в графе ISI. Значение среднего нормального протромбинового времени ( $PB_{100\%}$ ) устанавливается в графе Normal. Значение  $PB_{100\%}$  рассчитывается следующим образом:

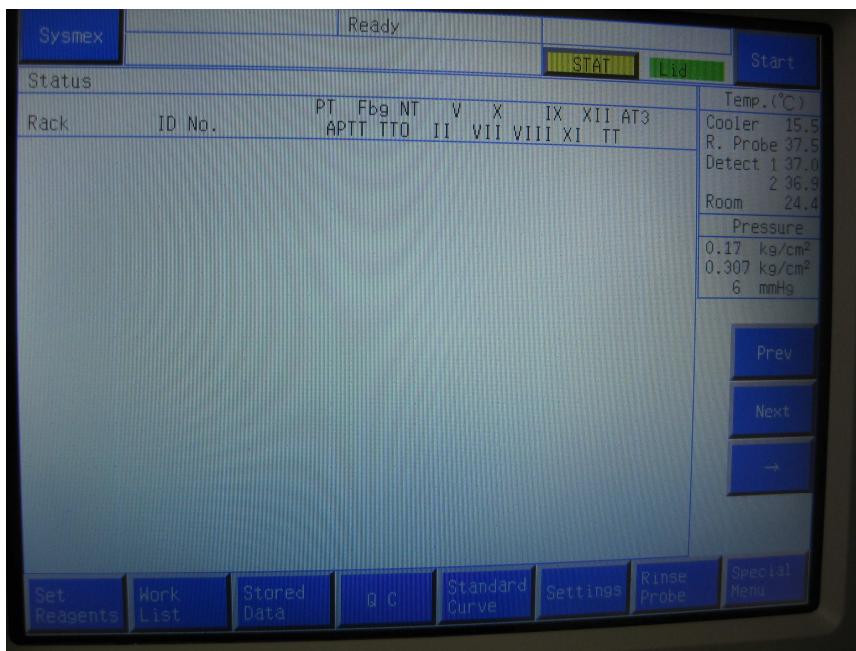
$$PB_{100\%} = \frac{PB_K}{PO_K},$$

где  $PB_K$  – протромбиновое время в плазме-калибраторе (без разведения);  $PO_K$  – протромбиновое отношение плазмы-калибратора (указано в паспорте на плазму-калибратор).

Все изменения подтверждаются нажатием Enter и при выходе нажатием на [Fix].

Для начала построения калибровочной кривой следует выйти в главное меню, нажав на [Main Menu]. Далее из главного окна перейти в рабочий лист нажатием на [Work list].





В открывшемся окне нажать на клавишу [Standard Curve], выбрать тест, который необходимо откалибровать, в данном случае PT. Установить плазму-калибратор в Rack (первую ячейку) и нажать Start в правом верхнем углу.

Если есть необходимость, то можно произвести калибровку в ручном режиме. Для построения калибровочной кривой в ручном режиме необходимо получить значение протромбинового времени в различных разведениях плазмы-калибратора (например, 100%, 50%, 25%) в секундах экспериментально, независимо от значений предыдущей калибровочной кривой. Настройки протокола теста должны соответствовать используемому тромбопластину (Ренампластину).

Полученные данные внести в таблицу в окне «Manual Entry».

Значение МИЧ (ISI) и нормальное значение  $PIB_{100\%}$  вносятся так же, как и при построении калибровки в автоматическом режиме, в графах Normal и ISI.

Подтвердить полученную калибровочную кривую соответствующей командой.

## Пример паспорта на реагент Ренампластин

**Ренампластин**

Серия № 9812

Гожен до: 11.14

№ п/п	Наименование показателя	По ТУ 9398-254-05595541-02	Фактическое значение
1	Внешний вид Ренампластина	Пористая масса серого цвета	Соответствует
2	Растворимость Ренампластина, мин. не более	3	Соответствует
3	Активность Ренампластина в пуле донорской плазмы, сек.	12 – 18	<b>16,0</b>
4	Международный Индекс Чувствительности (МИЧ)	1,0 – 1,2	<b>1,20</b>
5	Допустимое отклонение активности Ренампластина от аттестованного значения, % не более	10	Соответствует
6	Допустимое отклонение МИЧ Ренампластина от аттестованного значения, % не более	10	Соответствует
7	Чувствительность, в % протромбина не более	12,5	Соответствует
8	Линейность в диапазоне концентраций 100-25%, отклонение в % не более	10	Соответствует
9	Коэффициент вариации результатов определения, % не более	10	Соответствует



**Пример паспорта**  
**Протромбин-калибратор**

Серия 0113

Годеи до: 06.14

№ п/п	Исследуемые параметры гемостаза	Значение ( $M \pm 2\sigma$ )
1	ПО, Ренампластин	1,0 $\pm$ 0,05
2	ПО, Тромбопластин	1,0 $\pm$ 0,05
3	Активность протромбина по Квику, в % (Ренампластин)	<b>100</b> $\pm$ 5
4	Активность протромбина по Квику, в % (Тромбопластин)	100 $\pm$ 5

## Интерпретация результатов

### Нормальная область.

Протромбиновое время – 14-18 секунд.

Процент протромбина по Квику – 70-130%.

Международное Нормализованное Отношение – 0,85-1,15.

Протромбиновый индекс – 90-105%.

### Терапевтическая область.

Показания	Рекомендуемая терапевтическая область МНО	% протромбина по Квику для Ренампластина
Тромбоз глубоких вен Легочная эмболия Инфаркт миокарда	2,0 – 3,0	50 – 30
Искусственные клапаны сердца Рекуррентная системная эмболия	3,0 – 4,5 или 2,5 – 3,5	30 – 20 или 35 – 25

## **Определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ)**

Для оценки АЧТВ с помощью коагулометра Sysmex CA-1500 НПО РЕНАМ рекомендует использовать АЧТВ-тест (кат. № ПГ 7/1).

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма Н» (кат. № КМ-1), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-2), аттестованную по 20 параметрам в нормальной области системы гемостаза.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма патологическая» (кат. № КМ-3), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в патологической области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-4), аттестованную по 20-ти параметрам в патологической области системы гемостаза.

### **Пример инструкции к набору АЧТВ-тест**

Набор реагентов для определения активированного частичного  
тромбопластинового времени (АЧТВ).

АЧТВ является одним из наиболее распространенных и чувствительных тестов для выявления широкого диапазона коагуляционных нарушений. АЧТВ изменяется в зависимости от различных количеств фибриногена, активности протромбина, факторов V, VIII, IX, X, XI, XII, других факторов контакта, присутствия специфических ингибиторов факторов свертывания VIII и IX. АЧТВ является широко применяемым методом контроля эффективности парентерального введения гепарина.

#### **Принцип метода**

К исследуемой плазме добавляют реагент, представляющий собой водный раствор эллаговой кислоты (активатор внутреннего пути свертывания) в комплексе с соевыми фосфолипидами. В процессе измерения АЧТВ регистрируют время от момента добавления ионов кальция до момента образования сгустка.

#### **Состав набора АЧТВ-тест**

код ПГ-7/1

1. АЧТВ-реагент (4 мл) – 7 флаконов.

2. Кальция хлорида 0,025 М раствор (10 мл) – 3 флакона.

**Состав набора АЧТВ-реагент**

**код ПГ-7/2**

АЧТВ-реагент (4 мл) – 3 флакона.

### **Приготовление реагентов и стабильность**

**АЧТВ-реагент.** АЧТВ-реагент представляет собой лиофильно высушенный реагент на основе соевых фосфолипидов и активатора – эллаговой кислоты. Внести во флакон с АЧТВ-реагентом 4 мл дистиллированной воды, растворить при покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 30 минут после растворения.

*Стабильность АЧТВ-реагента.*

Реагент	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C
АЧТВ-реагент	14 дней	1 день	2 мес.

**Кальция хлорида 0,025 М раствор.** Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при 37°C. Повторное прогревание вскрытого флакона не рекомендуется.

*Стабильность.*

+2-8°C	+18-25°C	+37°C
До окончания срока хранения в закрытом виде		8 часов

### **Получение исследуемой плазмы для анализа.**

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия, центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 1,0 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при 2-8°C не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

### **Меры предосторожности.**

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови

человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

### **Контрольная плазма**

При комнатной температуре (18-25°C) внести во флакон с лиофильно высушенной плазмой 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор плазмы нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20-30 мин.

Приготовленный раствор плазмы можно хранить во флаконе изготовителя:

- не более 4 часов при температуре 2-8°C;
- не более 2 часов при комнатной температуре (18-25°C).

Приготовленный раствор плазмы можно разлить по аликвотам в пластиковые пробирки, плотно закрыть, заморозить в течение 1 часа при температуре -24°C и хранить при этой температуре не более 2 недель.

## **Программирование прибора**

1. В окне «Main Menu» нажать команду [Setting].
2. В окне «Setting» выбрать [Analysis Setting].
3. В окне «Analysis Setting» нажать [Test Protocol].
4. В окне «Test Protocol» выбрать тест [APTT].
5. Внести в таблицу Протокола теста следующие изменения (выделено на примере):



Вводимые значения каждый раз подтверждать нажатием [Enter].

Для перехода по строкам таблицы использовать стрелки курсора.

По окончании заполнения таблицы выйти из окна «Test Protocol» нажатием [Quit].

В окне «Test Protocol. Renew Settings?» подтвердить внесенные изменения нажатием [FIX]. Можно продолжить редакцию протокола теста – нажать [Continue], либо вернуться в предыдущее окно без запоминания изменений, нажав [Cancel].

В качестве реагента АРТТ выступает рабочий раствор АЧТВ-реагента. В штативе нужно использовать гнезда, которые запрограммированы для АРТТ и CaCl<sub>2</sub> соответственно.

## Пример Паспорта

### Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ)

#### АЧТВ-тест

Серия № 9912

Годеи до 07.14

№ п/п	Наименование показателя	По ТУ № 9398-017-05595541-2009	Фактическое значение
1	Внешний вид АЧТВ-реагента	Пористая масса серого цвета	Соответствует
2	Внешний вид кальция хлорида 0,025 М раствора	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
3	Растворимость АЧТВ-реагента, минут, не более	1	Соответствует
4	АЧТВ здоровых доноров, сек		24 - 34
5	Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ, % не более	10	Соответствует
6	Допустимое отклонение продолжительности АЧТВ от аттестованного значения, % не более	10	Соответствует

#### Интерпретация полученных результатов.

АЧТВ-реагент не чувствителен к волчаночному антикоагулянту.

АЧТВ-реагент чувствителен к присутствию гепарина. Возможно использовать в качестве реагента, позволяющего проводить мониторинг гепаринотерапии.

АЧТВ-реагент можно использовать при определении активностей факторов внутреннего пути свертывания.

В норме АЧТВ составляет 24-34 секунды.

*Примечание:*

После выполнения теста в режиме увеличенного времени сбора результатов анализов оператор должен переключить прибор в стандартный режим, чтобы не допустить увеличения времени анализа в повседневной работе.

Если выбран режим «Extended» в верхней части экрана, рядом с названием выбранного анализа появится буква «E».

Эта программа не повлияет на время сбора данных в режиме смешанных тестов.



## **Определение уровня фибриногена по Клауссу (Fbg)**

Для количественной оценки содержания фибриногена по Клауссу с помощью коагулометра Sysmex CA-1500 НПО РЕНАМ рекомендует использовать тест-систему Фибриноген-А-тест (кат. № ПГ-10/1А). Рекомендуется использовать методику определения фибриногена по стандартному протоколу Fbg.

В качестве калибратора используется плазма-калибратор, входящая в состав набора Фибриноген-А-тест. Также возможно использование Плазмы-калибратора (кат. № КМ-16), аттестованной по активности факторов свертывания, в том числе фибриногена.

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма Н» (кат. № КМ-1), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-2), аттестованную по 20 параметрам в нормальной области системы гемостаза.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма патологическая» (кат. № КМ-3), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в патологической области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-4), аттестованную по 20 параметрам в патологической области системы гемостаза.

### **Пример инструкции Фибриноген А - тест**

#### **Набор реагентов для определения содержания фибриногена в плазме человека по методу Клаусса для автоматических коагулометров**

Определение содержания фибриногена в плазме крови человека является одним из четырех базовых тестов. Измерения содержания фибриногена в плазме проводят при гиперфибриногенемии, которая связана с тяжестью воспалительных, иммунных, деструктивных процессов, а также является одним из факторов повышенного риска развития гипервискозного синдрома, артериальных тромбозов и инфарктов органов. Снижение концентрации фибриногена наблюдается при остром ДВС-синдроме, при лечении фибринолитиками, при врожденных гипо- и дисфибриногенемиях.

### **Принцип метода.**

Определение содержания фибриногена основано на измерении времени свертывания разведенной плазмы избытком тромбина. В этом случае время свертывания зависит только от концентрации фибриногена в плазме. Концентрацию фибриногена определяют по калибровочной прямой, используя плазму с известным содержанием фибриногена.

### **Состав набора.**

1. Тромбин для определения фибриногена (5 мл) – 4 фл.
2. Плазма-калибратор (1 мл) – 1 фл.
3. Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) – 1 фл.

### **Приготовление реагентов.**

**1. Рабочий буферный раствор.** Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) перелить в мерную колбу вместимостью 100 мл и долить до метки дистиллированной водой (разведение в 20 раз), тщательно перемешать. Рабочий буферный раствор хранить при температуре +2-8°C не более 1 месяца.

**2. Тромбин для определения фибриногена.** Тромбин человека, лиофильно высушенный с активностью около 30 МЕ/мл. Внести во флакон с лиофильно высушенным тромбином 5 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

**3. Раствор плазмы-калибратора.** Во флакон с плазмой-калибратором внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

### **Стабильность реагентов.**

<b>Реагенты</b>	<b>+2-8°C</b>	<b>+18-25°C</b>	<b>-18-20°C</b>
Тромбин для определения фибриногена	5 дней	2 дня	2 месяца
Раствор плазмы – калибратора	8 часов	4 часа	2 месяца

### **Чувствительность тромбина к гепарину.**

В состав тромбина входит инактиватор гепарина, что позволяет использовать данный реагент для измерения содержания фибриногена в гепаринизированных образцах плазмы больных.

### **Получение исследуемой плазмы для анализа.**

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия, центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 0,2 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре – не более 4 часов, при 2-8°C не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

### **Построение и использование калибровочного графика.**

Для построения и использования калибровочного графика следовать настройкам производителя прибора.

Линейность данного теста лежит в диапазоне концентраций фибриногена от 0,7 до 7 г/л.

### **Проведение анализа.**

Для проведения анализа использовать настройки производителя прибора. Необходимо помнить, что для проведения анализа исследуемая плазма большого требует разведение рабочим буферным раствором в 10 раз.

Соотношение разведенной плазмы к рабочему раствору тромбина рекомендовано как 100 мкл и 50 мкл соответственно, время инкубации плазмы 120 сек.

### **Меры предосторожности.**

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

### **Контроль качества.**

Нормальные и патологические значения содержания фибриногена следует контролировать с помощью контрольных плазм НПО РЕНАМ:

Плазма контрольная на 6 параметров (Плазма Н)	код КМ-1
Плазма контрольная на 20 параметров	код КМ-2
Плазмы контрольная патологическая на 6 параметров	код КМ-3
Плазмы контрольная патологическая на 20 параметров	код КМ-4

### **Программирование прибора**

Использование тест-системы Фибриноген-А-тест подразумевает проведение исследования на стандартных настройках протокола Fbg. Никаких дополнительных изменений в протокол не вносится.

### **Построение калибровочной кривой.**

Построение калибровочной кривой производится на стандартных разведениях протокола Fbg. Необходимо указать уровень содержания фибриногена в плазме-калибраторе, который указан в паспорте на набор Фибриноген-А-тест.

## Пример паспорта к набору Фибриноген А-тест

### Набор реагентов для определения содержания фибриногена Фибриноген А-тест

Серия № 0712

Голен до: 09.14

№ п/п	Наименование показателя	По ТУ № 9398-264-05595541-02	Фактическое значение
1	Внешний вид тромбина с.0712	Пористая масса белого цвета	Соответствует
2	Внешний вид буфера имидазолового концентрированного	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
3	Внешний вид плазмы-калибратора	Пористая масса желтого цвета	Соответствует
4	Растворимость тромбина и плазмы-калибратора, мин. не более	3	Соответствует
5	Содержание фибриногена в плазме-калибраторе с.0712, г/л	2,4 – 4,0	<b>3,1</b>
6	Допустимое отклонение содержания фибриногена в плазме-калибраторе от аттестованного значения, % не более	5	Соответствует
7	Чувствительность, г/л не более	0,7	Соответствует
8	Линейность в диапазоне концентраций 0,7-7,0 г/л отклонение в % не более	5	Соответствует
9	Коэффициент вариации результатов определения, % не более	5	Соответствует

## **Интерпретация результатов.**

В норме содержание фибриногена составляет 1,8 – 4 г/л.

## **Определение фибриногена при помощи тест системы Фибриноген-тест.**

Уровень содержания фибриногена также можно определять набором Фибриноген-тест (кат. ПГ-10/1).

### **Пример инструкции к набору Фибриноген-тест**

#### **Набор реагентов для определения содержания фибриногена**

Определение содержания фибриногена в плазме крови человека является одним из четырех базовых тестов. Измерения содержания фибриногена в плазме проводят при гиперфибриногемии, которая связана с тяжестью воспалительных, иммунных, деструктивных процессов, а также является одним из факторов повышенного риска развития гипервискозного синдрома, артериальных тромбозов и инфарктов органов. Снижение концентрации фибриногена наблюдается при остром ДВС-синдроме, при лечении фибринолитиками, при врожденных гипо- и дисфибриногемиях.

#### **Принцип метода**

Определение содержания фибриногена основано на измерении времени свертывания разведенной плазмы избытком тромбина. В этом случае время свертывания зависит только от концентрации фибриногена в плазме. Концентрацию фибриногена определяют по калибровочной прямой, используя плазму с известным содержанием фибриногена.

#### **Состав набора**

1. Тромбин для определения фибриногена (2 мл) – 8 флаконов.
2. Плазма-калибратор (1 мл) – 1 флакон.
3. Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) – 1 флакон.

#### **Приготовление реагентов**

**1. Рабочий буферный раствор.** Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) перенести количественно в мерную колбу вместимостью 100 мл и долить до метки дистиллированной водой (разведение в 20 раз), тщательно перемешать. Рабочий буферный раствор хранить при температуре +2-8°C не более 1 месяца.

**2. Тромбин для определения фибриногена.** Тромбин человека, лиофильно высушенный с активностью около 50 МЕ/мл. Внести во флакон с лиофильно высушенным тромбином 2 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

**3. Раствор плазмы-калибратора.** Во флакон с плазмой-калибратором внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

**Стабильность реагентов.**

Реагенты	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C
Тромбин для определения фибриногена	5 дней	2 дня	2 месяца
Раствор плазмы – калибратора	8 часов	4 часа	2 месяца

**Чувствительность тромбина к гепарину.**

В состав тромбина входит инактиватор гепарина, что позволяет использовать данный реагент для измерения содержания фибриногена в гепаринизированных образцах плазмы больных.

**Получение исследуемой плазмы для анализа.**

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия. Центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 1,0 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при +2-8°C не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

**Меры предосторожности.**

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

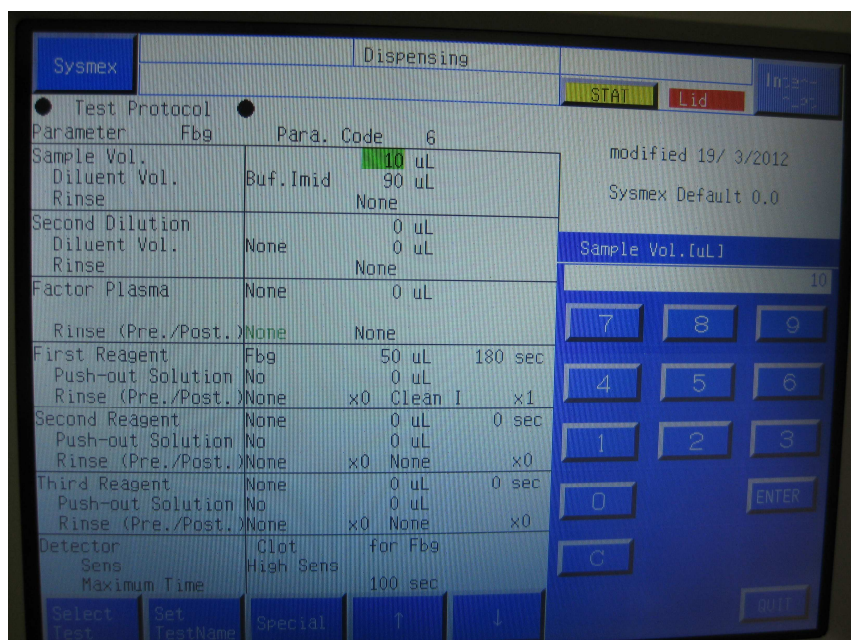
При работе с исследуемыми образцами следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные,

способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

## Программирование прибора

Для измерения уровня фибриногена с использованием тест системы Фибриноген-тест необходимо в стандартном протоколе Fbg произвести следующие изменения:

1. В окне «Main Menu» нажать команду [Setting].
2. В окне «Setting» выбрать [Analysis Setting].
3. В окне «Analysis Setting» нажать [Test Protocol].
4. В окне «Test Protocol» выбрать тест [Fbg].
5. Внести в таблицу Протокола теста следующие изменения (выделено красным):



Вводимые значения каждый раз подтверждать нажатием [Enter].



Для перехода по строкам таблицы использовать стрелки курсора.

По окончании заполнения таблицы выйти из окна «Test Protocol» нажатием [Quit].

В окне «Test Protocol. Renew Settings?» подтвердить внесенные изменения нажатием [FIX]. Можно продолжить редакцию протокола теста – нажать [Continue], либо вернуться в предыдущее окно без запоминания изменений, нажав [Cancel].

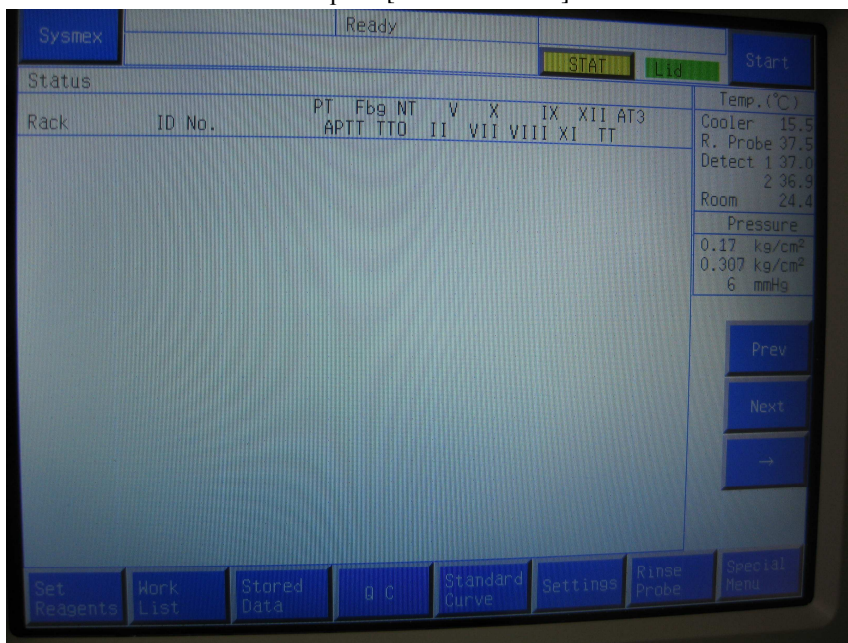
В качестве реагента Fbg выступает тромбин для определения фибриногена.

В штативе нужно использовать позицию, которая запрограммирована для Fbg.

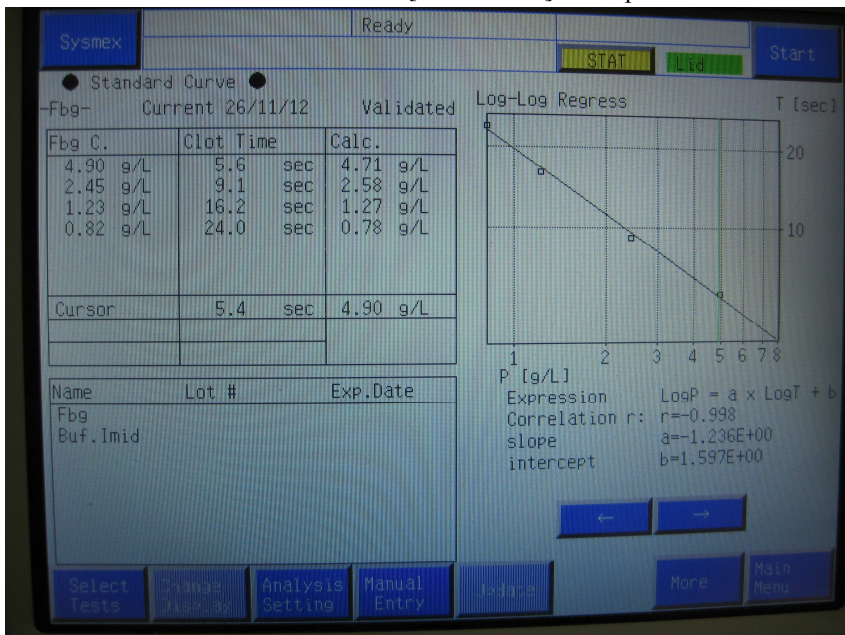
В качестве реагента OVB служит рабочий раствор имидазолового буфера. Емкость с имидазоловым буфером устанавливается в гнездо для OVB.

## Построение калибровочной кривой.

1. В окне «Main Menu» выбрать [Standard Curve].



2. В окне «Standard curve» нажать [Select Tests] и выбрать тест Fib C.



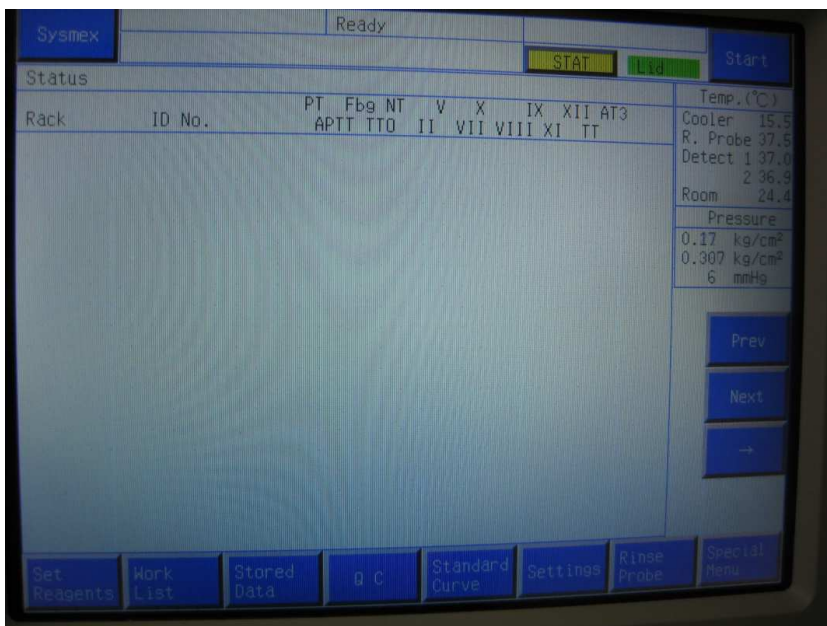
3. Задать параметры построения калибровочной кривой: в автоматическом режиме, нажав [Analysis Setting], либо, в крайнем случае, можно ввести калибровочные значения вручную, нажав на кнопку [Manual].

В автоматическом режиме в выделенной строке установить значение уровня фибриногена в плазме-калибраторе (SHP), указанное в паспорте к набору Фибриноген-тест и выбрать режим разведения плазмы-калибратора (например, 2/1;1/1;1/2;1/3)



Все изменения подтверждаются нажатием Enter. Для возврата в основное меню нажать клавишу [Return] и при выходе подтвердить внесенные изменения нажатием на [Fix].

Для старта построения калибровочной кривой выйти в главное меню, нажав на [Main Menu]. Далее из главного окна перейти в рабочий лист нажатием на [Work list].



В открывшемся окне нажать на клавишу [Standard Curve], выбрать тест, который необходимо откалибровать, в данном случае Fbg. Установить плазму-калибратор в Rack (первую ячейку) и нажать Start в правом верхнем углу.

### **Интерпретация результатов.**

В норме содержание фибриногена составляет 1,8 – 4 г/л.

## Пример паспорта к набору Фибриноген-тест

Набор реагентов для определения содержания фибриногена

Фибриноген-тест

Серия № 5312

Годен до:12.14

№ п/п	Наименование показателя	По ТУ № 9398-264-05595541-02	Фактическое значение
1	Внешний вид тромбина	Пористая масса белого цвета	Соответствует
2	Внешний вид буфера имидазолового концентрированного с.5212	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
3	Внешний вид плазмы-калибратора	Пористая масса желтого цвета	Соответствует
4	Растворимость тромбина и плазмы-калибратора, мин. не более	3	Соответствует
5	Содержание фибриногена в плазме-калибраторе, г/л Плазма-калибратор сер. 18 12	1,8 – 3,5	2,45
6	Допустимое отклонение содержания фибриногена в плазме-калибраторе от аттестованного значения, % не более	5	Соответствует
7	Чувствительность, г/л не более	0,9	Соответствует
8	Линейность в диапазоне концентраций 0.6-5.0 г/л отклонение в % не более	5	Соответствует
9	Коэффициент вариации результатов определения, % не более	5	Соответствует

## Определение тромбинового времени (ТВ)

Для оценки ТВ с помощью коагулометра Sysmex CA-1500 НПО РЕНАМ рекомендует использовать Тромбин-реагент (кат. № ПГ-9А).

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма Н» (кат. № КМ-1), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной области, либо Плазму (кат. № КМ-2), аттестованную по 20 параметрам в нормальной области системы гемостаза.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма патологическая» (кат. № КМ-3), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в патологической области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-4), аттестованную по 20 параметрам в патологической области системы гемостаза.

### Пример инструкции к набору Тромбин-реагент

#### Набор реагентов для определения тромбинового времени.

Тест тромбиновое время характеризует конечный этап свертывания, т.е. скорость превращения фибриногена в фибрин. Тест тромбиновое время (ТВ) используют для определения функциональной активности фибриногена и ингибиторов тромбина в плазме, таких как:

- продукты деградации фибрина/фибриногена;
- гепарин и гепариноиды;
- при проведении фибринолитической терапии.

Аномальное тромбиновое время встречается в случаях гипофибриногенемии, афибриногенемии, или дисфибриногенемии.

#### Принцип метода

Основан на определении времени образования фибринового сгустка при добавлении к плазме раствора тромбина необходимой активности.

#### Набор

Тромбин-реагент код ПГ-9А

#### Состав набора.

1. Тромбин-реагент – 9 флаконов,
2. Растворитель для тромбин-реагента, концентрат (6 мл) – 1 флакон.

## Приготовление реагентов

**1. Растворитель для тромбин-реагента.** Концентрат растворителя для тромбина, 6 мл перенести в мерный цилиндр, довести дистиллированной водой до объема 60 мл и тщательно перемешать. Хранить при температуре +2-8°C не более 1 месяца.

### 2. Тромбин-реагент и его стабильность.

В зависимости от необходимой активности тромбина внести во флакон с лиофильно высушенным тромбин-реагентом следующее количество растворителя (см. таблицу).

Активность МЕ/мл	Объем растворителя, который необходимо внести во флакон, мл	Стабильность		
		2-8°C	+18-25°C	-18-22°C*
9	2	3 дня	1 день	1 месяц
6	3	3 дня	1 день	1 месяц
3	6	3 дня	1 день	1 месяц

**\*не рекомендуется повторное замораживание реагента.**

Тромбин-реагент готов к проведению анализа через 15 минут после добавления растворителя.

### Получение исследуемой плазмы для анализа.

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия. Центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 1,0 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при 2-8°C не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

### Стандартизация Тромбин-реагента.

Каждая серия Тромбин-реагента для определения тромбинового времени аттестована по активности в МЕ/мл против вторичного Международного стандарта по процедуре, утвержденной Европейской Фармакопеей.

Пределы времени свертывания в контрольной плазме с активностью тромбина 3, 6 и 9 МЕ/мл указаны в паспорте на набор.

### **Чувствительность Тромбин-реагента к гепарину.**

Рабочие растворы тромбина с активностью 3, 6 и 9 МЕ/мл чувствительны к присутствию гепарина в исследуемой плазме, что позволяет проводить с помощью данного реагента мониторинг за введением гепарина.

### **Меры предосторожности.**

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

### **Контрольная плазма.**

При комнатной температуре (18-25°C) внести во флакон с лиофильно высушенной плазмой 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор плазмы нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20-30 мин.

Приготовленный раствор плазмы можно хранить во флаконе изготовителя:

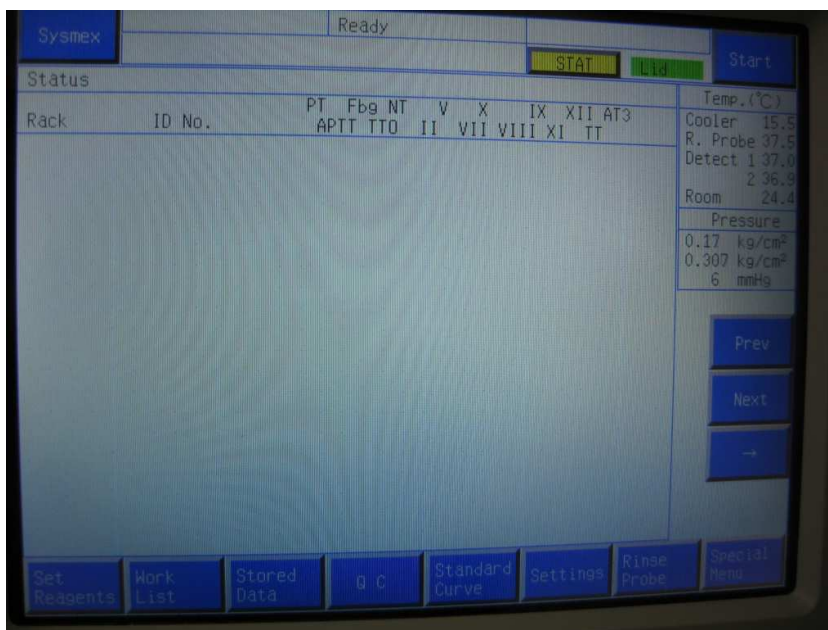
- не более 4 часов при температуре 2-8°C;
- не более 2 часов при комнатной температуре (18-25°C).

Приготовленный раствор плазмы можно разлить по аликвотам в пластиковые пробирки, плотно закрыть, заморозить в течение 1 часа при температуре -24°C и хранить при этой температуре не более 2 недель.



## Программирование прибора

1. В окне «Main Menu» нажать команду [Setting].

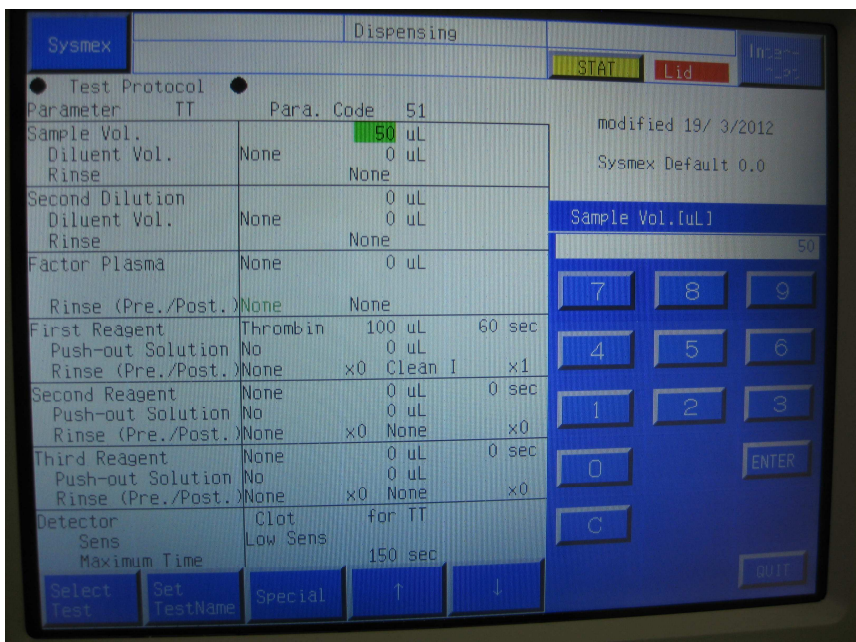


2. В окне «Setting» выбрать [Analysis Setting].

3. В окне «Analysis Setting» нажать [Test Protocol].

4. В окне «Test Protocol» выбрать тест [TT].

5. Внести в таблицу Протокола теста следующие изменения\* (выделено на примере):



Вводимые значения каждый раз подтверждать нажатием [Enter].

Для перехода по строкам таблицы использовать стрелки курсора.

По окончании заполнения таблицы выйти из окна «Test Protocol» нажатием [Quit].

В окне «Test Protocol. Renew Settings?» подтвердить внесенные изменения нажатием [FIX]. Можно продолжить редакцию протокола теста – нажать [Continue], либо вернуться в предыдущее окно без запоминания изменений, нажав [Cancel].

В качестве реагента Thrombin выступает рабочий стабилизированный раствор тромбин-реагента. В штативе нужно использовать позицию, которая запрограммирована для Thrombin.

### **Интерпретация результатов.**

Нормальная область для теста Тромбиновое время:

9 МЕ/мл	7 – 9 секунд
6 МЕ/мл	10 – 13 секунд
3 МЕ/мл	14 – 20 секунд

## **Первичные физиологические антикоагулянты:**

### **Определение активности антитромбина III оптическим методом (АТЗ)**

Для оценки активности АТ III с помощью коагулометра Sysmex CA-1500 НПО РЕНАМ рекомендует использовать тест-систему Реахром - АТ III (А) (кат. № ПФА-2/2).

В качестве калибратора используется плазма-калибратор, входящая в состав набора Реахром – АТ III (А).

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма Н» (кат. № КМ-1), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной области, либо Плазму (кат. № КМ-2), аттестованную по 20 параметрам в нормальной области системы гемостаза.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма патологическая» (кат. № КМ-3), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в патологической области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-4), аттестованную по 20 параметрам в патологической области системы гемостаза.

### **Пример инструкции**

#### **Набор реагентов для определения активности антитромбина III оптическим методом**

Набор Реахром – АТ III (А) предназначен для определения активности антитромбина III (АТ III) в плазме крови человека оптическим методом на автоматических коагулометрах. АТ III или ко-фактор гепарина – основной антагонист тромбина при образовании этого фермента в крови. В отсутствие гепарина АТ III медленно и необратимо ингибирует тромбин и другие факторы свертывания и фибринолиза. В присутствии гепарина АТ III становится быстрым ингибитором этих ферментов. Наследственный и приобретенный дефицит АТ III в крови приводит к развитию диссеминированного внутрисосудистого свертывания и в некоторых случаях острых тромбозов. Сниженная концентрация АТ III

наблюдается у больных с заболеваниями печени (при циррозе), с нефротическим синдромом в результате экскреции ингибитора с мочой. Концентрацию АТ III снижают оральные контрацептивы и инъекции гепарина.

Один набор предназначен для проведения 90 определений на коагулометрах Sysmex.

### **Принцип метода**

Метод определения активности АТ III основан на способности АТ III нейтрализовать тромбин в присутствии гепарина. Активность АТ III определяют в плазме, добавляя к ней избыток тромбина. При этом происходит ингибирование тромбина комплексом АТ III-гепарин пропорционально количеству АТ III в плазме. Оставшееся количество тромбина катализирует отщепление пара-нитроанилина (pNA) от синтетического хромогенного субстрата. Абсорбция свободного pNA, определяемая при 405 нм, обратно пропорциональна активности АТ III.

Процесс идет по следующей схеме:

АТ III + гепарин (избыток)  $\Rightarrow$  АТ III-гепарин.

АТ III-гепарин + тромбин (избыток)  $\Rightarrow$

АТ III-гепарин-тромбин + тромбин (остаток).

Субстрат-pNA + тромбин (остаток)  $\Rightarrow$  Пептид + pNA.

### **Состав набора**

Тромбин с гепарином (~10 НИИ/фл.) – 6 флаконов;

Плазма-калибратор, лиофильно высушенная (1 мл) – 1 флакон;

Хромогенный субстрат, лиофильно высушенный – 3 флакона.

### **Дополнительные реагенты**

Буфер для разведения исследуемых образцов:

Рекомендуется использовать физиологический раствор (0,9 % NaCl).

Также возможно использование дилуентов, поставляемых фирмами-производителями автоматических коагулометров.

### **Аналитические и диагностические характеристики набора**

В нормальной плазме здоровых лиц активность АТ III составляет 80-120%.

Активность АТ III в плазме-калибраторе – 80-120%. Допустимое отклонение от аттестованного значения не более 10%.

Чувствительность определения 10%.

Отклонение от линейности в диапазоне активности АТ III от 25 до 100% не более 10%.

Коэффициент вариации результатов определения активности АТ III не превышает 10%.

Допустимый разброс результатов определения активности АТ III в одной пробе крови разными наборами одной серии не превышает 10%.

### **Меры предосторожности**

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

### **Оборудование и материалы**

- Автоматический коагулометр открытого типа с оптической системой регистрации результатов реакции;
- центрифуга лабораторная;
- пипетки вместимостью 0,02-0,2 мл; 0,1-1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- вакуумные системы для взятия крови;
- цитрат натрия 0,11 М (3,8%) раствор;
- пробирки пластиковые вместимостью 5 мл или 10 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые.

### **Получение исследуемой плазмы для анализа**

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% (0,11 моль/л) цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,11 моль/л) цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре (18-25°C) в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Время хранения исследуемой плазмы до анализа – не более 4 ч при комнатной температуре и не более 8 ч при температуре 2-8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -18-20°C и хранение при этой температуре не более 2 мес.

### **Приготовление реагентов и проведение анализа**

#### **Приготовление реагентов.**

1. Рабочий раствор тромбина. Во флакон с лиофильно высушенным тромбином внести 3 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании. Готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.
2. Раствор плазмы-калибратора. Во флакон с плазмой-калибратором внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.
3. Раствор хромогенного субстрата. Во флакон с хромогенным субстратом внести 1 мл дистиллированной воды, оставить без перемешивания на 20 минут, затем содержимое флакона тщательно перемешать

#### **Проведение анализа.**

1. Расположить приготовленные реагенты на борту автоматического коагулометра в ячейках согласно инструкции производителя прибора.
2. Запустить программу Calibrate, калибровка прибора.
3. Расположить исследуемые образцы на борту прибора согласно инструкции производителя.
4. Запустить программу определения АТ III.
5. Считать результаты.

#### **Регистрация результатов**

Автоматический коагулометр регистрирует скорость нарастания оптической плотности при расщеплении хромогенного субстрата и пересчитывает ее по заранее построенному калибровочному графику в процент АТ III в исследуемом образце.

### Учет результатов реакции

Образцы с высоким уровнем активности АТ III могут выйти за пределы линейности, что приводит к искажению результатов. Поэтому точные значения активности АТ III для таких образцов могут быть получены при разведении исходной плазмы в 2 раза буфером для разведения образцов, используемом в соответствующем коагулометре. При этом полученный результат должен быть умножен на 2.

Заниженные результаты могут быть получены при анализе образцов плазмы пациентов:

- с повышенным содержанием липидов;
- с повышенным содержанием билирубина.

### Условия хранения и эксплуатации набора

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно проводиться при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора допускается.

Срок годности набора – 24 мес.

### Стабильность разведенных реагентов

Реагенты	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C
Рабочий раствор тромбина	5 дня	2 дня	2 мес.
Раствор хромогенного субстрата	14 дней	5 дней	2 мес.
Раствор плазмы-калибратора	8 часов	4 часа	2 мес.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

### Контроль качества.

Нормальные и патологические значения антитромбина III следует контролировать с помощью контрольных плазм НПО РЕНАМ:

Плазма контрольная нормальная (Плазма Н) код КМ-1

Плазма контрольная патологическая код КМ-3

## **Программирование прибора**

Работа на приборе осуществляется согласно стандартному протоколу АТ 3.

В качестве Buf.Нер выступает физиологический раствор.

В качестве реагента АТ3 Thro выступает рабочий раствор тромбина.

В качестве реагента АТ3 Subs выступает раствор хромогенного субстрата.

В штативе нужно использовать позиции, которые запрограммированы для АТ3 Thro и АТ3Subs соответственно.

Физиологический раствор поместить в ячейку, предназначенную для раствора Buf.Нер.

## **Построение калибровочной кривой**

Калибровочная кривая для АТ III строится согласно стандартным настройкам для протокола АТ 3. Перед запуском калибровки прибора необходимо ввести значение активности антитромбина, указанное в паспорте к набору Реахром АТ III (А)



## Пример Паспорта

### Набор реагентов для определения активности антитромбина III Реахром-АТ III (А)

Серия № 0212

Годеи до: 12.14

№ п/п	Наименование показателя	По ТУ	Фактическое значение
1	Внешний вид тромбина с гепарином (серия 0212)	Пористая масса белого цвета	Соответствует
2	Внешний вид плазмы-калибратора (серия 5212)	Пористая масса желтого цвета	Соответствует
3	Внешний вид хромогенного субстрата (серия 4912)	Пористая масса белого цвета	Соответствует
4	Растворимость тромбина и плазмы-калибратора, мин. не более	3	Соответствует
5	Растворимость хромогенного субстрата, мин. не более	20	Соответствует
6	Активность антитромбина III в плазме-калибраторе с. 5212, %	80 - 120	<b>90</b>
7	Допустимое отклонение активности антитромбина III в плазме-калибраторе от аттестованного значения, % не более	10	Соответствует
8	Чувствительность, % не более	10	Соответствует
9	Линейность в диапазоне активности 10-100%, отклонение в % не более	10	Соответствует
10	Коэффициент вариации результатов определения, % не более	10	Соответствует

### **Интерпретация результатов.**

Заниженные результаты могут быть получены при анализе образцов плазм больных:

- с повышенным содержанием липидов;
- с повышенным содержанием билирубина.

**В нормальной плазме здоровых лиц активность антитромбина III составляет 80 - 120%.**

## **Факторы свертывания крови:**

### **Определение активности VIII фактора свертывания крови (Factor VIII)**

Для оценки активности Фактора VIII с помощью коагулометров Sysmex SA-1500 НПО РЕНАМ рекомендует использовать подборку реагентов на основе тест-системы Фактор VIII-тест.

В качестве калибратора рекомендуется использовать плазму-калибратор «Мультикалибратор» (кат № КМ-16)

Вместо эрилида и каолина предлагается использовать АЧТВ-реагент (кат. № ПГ-7/2).

Кальций хлористый приобретается отдельно (кат. № Р-9).

Буфер имидазоловый приобретается отдельно (кат. № Р-7).

Плазма субстратная приобретается отдельно (кат. № КМ-6).

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать Плазму контрольную (кат № КМ-2), аттестованную по 20 параметрам в нормальной области системы гемостаза.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать Плазму контрольную (кат. № КМ-4), аттестованную по 20 параметрам в патологической области системы гемостаза.

Также можно использовать Патоплазму VIII с активностью ф. VIII 20% (кат. № КМ-8/1) и Патоплазму VIII с активностью ф. VIII 200% (кат. № КМ-9/1).

### **Пример инструкции**

#### **Набор реагентов для определения активности фактора VIII свертывания крови**

Фактор VIII – это гликопротеид с молекулярной массой приблизительно 280000 дальтон, локализованный кроме плазмы в печени, селезенке и лимфоцитах. В плазме фактор VIII циркулирует в нековалентно связанном комплексе с фактором фон Виллебранда. Фактор VIII активируется тромбином и фактором Ха и является кофактором фактора IXa в процессе активации фактора X в присутствии фосфолипидов и ионов кальция.

## **Область применения**

Набор предназначен для измерения активности фактора VIII:

- в плазме доноров;
- в плазме больных гемофилией А;
- в плазме больных с ингибиторной формой гемофилии А;
- в плазме больных с тромбофилическими состояниями, обусловленными высоким уровнем активности фактора VIII;
- в лечебных препаратах криопрециптата.

## **Набор**

Фактор VIII-тест

## **Принцип метода**

Время свертывания в тесте АЧТВ смеси разведенной исследуемой и субстрат дефицитной по фактору VIII плазм зависит только от активности фактора VIII в исследуемой плазме. При добавлении к разведенной исследуемой плазме субстрат дефицитной плазмы происходит коррекция всех факторов свертывания кроме фактора VIII.

## **Состав набора**

1. АЧТВ-реагент (4 мл) – 1 флакон Код ПГ-7/2
2. Кальция хлорида 0,025 М раствор (5 мл)- 1 флакон Код Р-9
3. Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) – 1 флакон Код Р-7
4. Плазма субстрат дефицитная по фактору VIII (1 мл) – 1 флакон Код КМ-6
5. Плазма-калибратор (1 мл) – 1 флакон. Код КМ-16

## **Приготовление реагентов**

**Рабочий буферный раствор.** Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) перелить в мерную колбу вместимостью 100 мл и долить до метки дистиллированной водой (разведение в 20 раз), тщательно перемешать. Рабочий буферный раствор хранить при температуре +2-8°C не более 1 месяца.

**АЧТВ-реагент.** АЧТВ-реагент представляет собой лиофильно высушенный реагент на основе соевых фосфолипидов и активатора – эллаговой кислоты. Внести во флакон с АЧТВ-реагентом 4 мл дистиллированной воды, растворить при покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 30 минут после растворения.

**Плазма субстратная, дефицитная по фактору VIII.** Во флакон с субстрат дефицитной плазмой внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Использовать через 20 минут после растворения.

**Плазма-калибратор.** Во флакон с плазмой-калибратором внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Использовать через 20 минут после растворения.

**Стабильность реагентов**

Реагенты	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C
АЧТВ-реагент	14 дней	1 день	2 мес.
Раствор плазмы-калибратора	8 часов	4 часа	2 мес.
Раствор плазмы субстрат дефицитной	8 часов	4 часа	2 мес.

**Кальция хлорида 0,025 М раствор.** Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при 37°C. Повторное прогревание вскрытого флакона не рекомендуется.

**Стабильность**

+18-25°C	+2-8°C	+37°C
До окончания срока хранения в закрытом виде		8 часов

**Получение исследуемой плазмы для анализа**

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия, центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 1,0 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при 2-8°C не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

## Программирование прибора

Методика проведения тестов и калибровки полностью соответствует стандартным настройкам прибора на определение фактора VIII.

### Интерпретация результатов.

Уровень активности фактора VIII в плазме в норме и патологии.

Активность фактора VIII в %	Заболевание
Больше 200	Почечная недостаточность Диабет Тромбофилическое состояние Прием гормональных контрацептивов
От 50 до 200	Норма
От 25 до 49	Гемофилия А, скрытая форма
От 5 до 24	Гемофилия А, легкая форма
От 1 до 5	Гемофилия А средней тяжести
Меньше 1	Гемофилия А, тяжелая форма

За единицу активности принимается активность фактора VIII, содержащегося в пуле донорской плазмы, взятой не менее чем от 300 здоровых доноров мужчин. Активность фактора VIII выражается в международных единицах (МЕ) или в процентах, причем 1 МЕ/мл соответствует 100% активности.

# Определение активности IX фактора свертывания крови (Factor IX )

Для оценки активности Фактора IX с помощью коагулометра Sysmex SA-1500 НПО РЕНАМ рекомендует использовать подборку реагентов на основе тест-системы Фактор IX-тест (кат. № ФС-2).

В качестве калибратора рекомендуется использовать плазму-калибратор «Мультикалибратор» (кат. № КМ-16)

Вместо эрилида и каолина предлагается использовать АЧТВ-реагент (кат. № ПГ-7/2)

Кальций хлористый приобретается отдельно (кат. № Р-9).

Буфер имидазоловый приобретается отдельно (кат. № Р-7).

Плазма субстратная приобретается отдельно (кат. № КМ-7).

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать Плазму контрольную (кат. № КМ-2), аттестованную по 20 параметрам в нормальной области системы гемостаза.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать Плазму контрольную (кат. № КМ-4), аттестованную по 20 параметрам в патологической области системы гемостаза.

## Пример инструкции

### Набор реагентов для определения активности фактора IX свертывания крови

Коагуляционный фактор IX – это витамин К-зависимый плазменный белок, состоящий из 415 аминокислот, разделенных на 5 полипептидных цепей. Активированный фактор IX участвует в активации фактора X в присутствии ионов кальция, анионных фосфолипидных мембран и ко-фактора VIIIa. Дефицит фактора IX является причиной гемофилии В – одного из наиболее распространенных врожденных заболеваний, проявляющихся кровотечением.

#### Область применения

Набор предназначен для измерения активности фактора IX:

- в плазме доноров;
- в плазме больных гемофилией В;
- в плазме больных с ингибиторной формой гемофилии В;

- в плазме больных с тромбофилическими состояниями, обусловленными высоким уровнем активности фактора IX.

### **Принцип метода**

Время свертывания в тесте АЧТВ смеси разведенной исследуемой и субстрат дефицитной по фактору IX плазм зависит только от активности фактора IX в исследуемой плазме. При добавлении к разведенной исследуемой плазме субстрат дефицитной плазмы происходит коррекция всех факторов свертывания кроме фактора IX.

### **Состав набора**

- |   |            |
|---|------------|
| 1. АЧТВ-реагент (4 мл) – 1 флакон                             | Код ПГ-7/2 |
| 2. Кальция хлорида 0,025 М раствор (5 мл) – 1 флакон          | Код Р-9    |
| 3. Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) – 1 флакон     | Код Р-7    |
| 4. Плазма субстрат дефицитная по фактору IX (1 мл) – 1 флакон | Код КМ-7   |
| 5. Плазма-калибратор (1 мл) – 1 флакон                        | Код КМ-2   |

### **Приготовление реагентов.**

**Рабочий буферный раствор.** Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) перелить в мерную колбу вместимостью 100 мл и долить до метки дистиллированной водой (разведение в 20 раз), тщательно перемешать. Рабочий буферный раствор хранить при температуре +2-8°C не более 1 месяца.

**АЧТВ-реагент.** АЧТВ-реагент представляет собой лиофильно высушенный реагент на основе соевых фосфолипидов и активатора – эллаговой кислоты. Внести во флакон с АЧТВ-реагентом 4 мл дистиллированной воды, растворить при покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 30 минут после растворения.

**Плазма субстратная, дефицитная по фактору IX.** Во флакон с субстрат дефицитной плазмой внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Использовать через 20 минут после растворения.

**Плазма-калибратор.** Во флакон с плазмой-калибратором внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Использовать через 20 минут после растворения.



### Стабильность реагентов.

Реагенты	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C
АЧТВ-реагент	14 дней	2 дня	2 мес.
Раствор плазмы-калибратора	8 часов	4 часа	2 мес.
Раствор плазмы субстрат дефицитной	8 часов	4 часа	2 мес.

**Кальция хлорида 0,025 М раствор.** Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при 37°C. Повторное прогревание вскрытого флакона не рекомендуется.

### Стабильность.

+18-25°C	+2-8°C	+37°C
До окончания срока хранения в закрытом виде		8 часов

### Получение исследуемой плазмы для анализа

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия, центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 1,0 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при 2-8°C не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

### Меры предосторожности

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

**Методика проведения тестов и калибровки полностью соответствует стандартным настройкам прибора на определение фактора IX.**

**Интерпретация результатов.**

Уровень активности фактора IX в плазме в норме и патологии.

Активность фактора IX в %	Заболевание
Больше 200	Почечная недостаточность Тромбофилическое состояние Прием гормональных контрацептивов
От 50 до 200	Норма
От 25 до 49	Гемофилия В, скрытая форма
От 5 до 24	Гемофилия В, легкая форма
От 1 до 5	Гемофилия В средней тяжести
Меньше 1	Гемофилия В, тяжелая форма

За единицу активности принимается активность фактора IX, содержащегося в пуле донорской плазмы, взятой не менее чем от 300 здоровых доноров мужчин. Активность фактора IX выражается в международных единицах (МЕ) или в процентах, причем 1 МЕ/мл соответствует 100% активности.

**По всем вопросам, связанным с работой реагентов, помощью в проведении адаптаций Вы можете обращаться по бесплатному номеру телефона 8-800-200-90-57 к специалистам по продукции Кишинцу Роману Сергеевичу и Тихомировой Ксении Владимировне.**