ЭМКО ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКАЯ КОМПАНИЯ

ООО ЭМКО
адрес: 129301, г. Москва, ул. Касаткина, д.11, стр.1
тел. +7(495) 287-8100, факс: 287-8400
горячая линия ‘’коагулометр‘‘: +7(495) 509-60-44
электронная почта: emco@bk.ru
интернет: http://www.coagulometer.ru

Пособие для врачей-лаборантов

КАК ПРАВИЛЬНО ПРОВЕСТИ КОАГУЛОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ?

Москва 2014 г.

Составители:

Безруков А.В., Кутепов М.В. (ООО ЭМКО)

Содержание:

Введение.....

Выбор типа коагулометра.....

Самые массовые коагулометры в России.....

Преаналитический этап .....

Аналитический этап.....

Рекомендации по проведению скрининговых тестов .....

10 шагов правильной работы на коагулометрах ЭМКО .....

Сообщения – подсказки на дисплее коагулометров ЭМКО .....

Литература.....

Введение

Исследование системы гемостаза имеет большое значение для диагностики причин различных видов геморрагий, и тромбозов [2,12,16,23]. Постоянный лабораторный контроль свёртывающей системы крови необходим при профилактике и в процессе лечения сердечно-сосудистых заболеваний, ишемий и инфарктов различных органов, большого числа акушерских осложнений и болезней новорожденных [14,18].

Согласно статистическим данным, в России причина смерти более, чем в 55 % случаев связана с болезнями системы кровообращения. [1,9,10,18]. В экономически развитых странах этот показатель ниже в 2 – 3 раза [20]. Причин много, но одна из важнейших – плохое оснащение отечественных лабораторий. Так, например, профилактический приём непрямого антикоагулянта **варфарина** [19,22,24,25,27] позволяет значительно снизить вероятность инсультов и инфарктов (на 70 – 30 % для разных заболеваний) [18,20,24]. В России применение варфарина в несколько раз ниже, чем в большинстве экономически развитых стран [26]. **Главная причина такого положения – недостаточное количество анализаторов показателей гемостаза** (коагулометров) в медицинских учреждениях**,** т.к. без регулярного инструментального контроля международного нормализованного отношения (МНО) применение варфарина может быть бесполезным, либо опасным (дозировка препарата строго индивидуальна).

Анализаторы показателей гемостаза необходимы:

В поликлиниках – для диспансеризации населения, для контроля МНО при приёме непрямых антикоагулянтов с целью профилактики инсультов, инфарктов, тромбоэмболий.

В родильных домах – для контроля показателей гемостаза у беременных и рожениц.

В хирургии – для контроля применения антикоагулянтов и трансфузионной терапии.

При экстренной медицинской помощи – для экспресс-диагностики нарушений свёртывания крови.

Применение в медицинских учреждениях коагулометров позволяет облегчить труд лаборанта, устранить элементы субъективности при выполнении коагуляционных тестов, уменьшить затраты и время, необходимые на проведение анализа, расширить спектр и качество проводимых исследований, поскольку большинство коагуляционных методик (тестов) выполнимы только с помощью приборов.

Выбор типа коагулометра

Наиболее распространенный метод исследования свертывания крови (коагуляции) т.н. клоттинговый (англ. «clot» - сгусток) – определение времени

образования сгустка [3]. Для измерения времени образования сгустка (в клоттинговых или коагуляционных тестах) используются приборы, называемые коагулометрами или анализаторами показателей гемостаза. Они бывают двух типов: автоматические и полуавтоматические [15,17].

В автоматических коагулометрах все элементы аналитического процесса выполняются без участия человека. Автоматические анализаторы, например, «CA-560» (фирмы «Sysmex», Япония), «STA Compact» (фирмы «Roche Diagnostics», Швейцария), «ACL 9000» (фирмы «Instrumentation Laboratories, США), «BCS» (фирмы «Dade Behring», Германия) имеют высокую производительность (75-200 тестов в час) и поэтому незаменимы в крупных больницах и медицинских центрах, где большое количество пациентов находятся на амбулаторном лечении. Применение автоматов сдерживается их высокой стоимостью, включая стоимость эксплуатации, и не целесообразностью использования в мелких и средних лабораториях, наиболее нуждающихся в оснащении коагулометрами. Именно в небольших лабораториях первичного звена (лабораториях поликлиник) должны осуществляться скрининговые исследования, т.к. коагулологические анализы необходимо проводить в течение 2-х часов с момента забора крови, включая время на транспортировку и последующую пробоподготовку (центрифугирование). Транспортировка биопроб на значительные расстояния нежелательна, т.к. на достоверность результатов анализа могут повлиять тряска, перегрев или охлаждение.

В полуавтоматических анализаторах, наиболее распространенных в практике лабораторной службы, дозирование плазмы и реагентов осуществляется лаборантом, а измерение времени образования сгустка и расчет результатов анализа выполняется автоматически.

Основным различием в принципе действия коагулометров является способ регистрации сгустка. Момент образования сгустка в коагулометрах может регистрироваться механическим способом (по остановке вращающегося в пробе стального шарика), оптическим способом (по резкому изменению оптической плотности реакционной смеси), или оптико-механическим (комбинация оптического и механического способов). На основе этого различия, выделяют оптические, механические и оптико-механические типы коагулометров [15,17].

Анализаторы с механическим способом регистрации: «Thrombostat 2» (фирмы «Behnk Elektronik», Германия), «CL4» (фирмы «Behnk Elektronik», Германия), «STart 4» (фирмы «Roche Diagnostics», Швейцария). Коагулометры с механическим способом характеризуются высокой надежностью и простотой в обслуживании. Неоспоримым преимуществом таких коагулометров является возможность исследования капиллярной крови, что остается актуальным в педиатрической практике и при массовом скрининговом обследовании [11]. Однако, при регистрации времени свертывания в крови ряда больных, точность такого исследования существенно ниже, чем при определении времени свертывания в плазме, так как на результаты анализа существенное влияние оказывает величина гематокрита [8,12]. В коагулометрах с механическим способом отсутствует автоматический запуск отсчета времени измерения при внесении

стартового реагента (функция автозапуска или автостарта). Для реализации этой функции необходим дополнительный дозатор (стартовая пипетка), соединяемый с коагулометром при помощи кабеля. Наличие кабеля снижает удобство эксплуатации анализатора. Основные проблемы применения такого типа коагулометров связаны с низкой плотностью образующегося сгустка при различных видах дисфибриногенемий или малых количествах фибриногена (<0,9 г/л) в пробе. В этих случаях, образовавшийся неплотный сгусток часто не может сразу остановить шарик, результаты получаются плохо воспроизводимыми [14].

Коагулометры с оптическим способом регистрации: «АСКа2-01» (НПЦ «Астра», Россия), «BioBas 2» (фирмы «Spinreact», Испания), «CD 2», «CD 4» (фирмы «DiaMed AG», Швейцария), «Fibrintimer II» (фирмы «Dade Behring», Германия); «Humaclot Duo» (фирмы «Human GmbH», Германия); «Thrombotimer 2», «Thrombotimer 4» (фирмы «Behnk Elektronik», Германия), «СТ2410» (фирмы «Solar», Беларусь), «CA-50» (фирмы «Sysmex», Япония). Обычно в оптических коагулометрах в измерительной кювете применяется перемешивание пробы и реагента (при помощи шарика или стерженька) для достижения гомогенности и хорошей повторяемости измерений [12,15]. Основным преимуществом оптических систем измерения является высокая чувствительность [12]. Почти все оптические коагулометры имеют функцию автозапуска (старт отсчета времени происходит автоматически в ответ на внесение реагента), поэтому не требуется применения стартовой пипетки. Оптические системы требуют применения оптически прозрачных реагентов и не позволяют проводить исследования с цельной кровью. К сожалению, для всех коагулометров, использующих оптический метод, нет единого алгоритма определения момента образования сгустка, вследствие этого результаты, полученные на приборах этого типа разных фирм, могут различаться.

Коагулометры с оптико-механическим способом регистрации: «АПГ2-01-Минилаб-701», «АПГ4-01-Минилаб-704» (ЗАО «А/О Юнимед», Россия) [6], «АПГ2-02», «АПГ2-02-П», «АПГ4-02-П» – «Коагулометры-ЭМКО» (ООО ЭМКО, Россия) [7]. В этих анализаторах предусмотрена возможность выбора оптического или механического метода регистрации (т.е. в одном приборе совмещены оба описанных ранее способа). Наличие двух способов регистрации фибринового сгустка делает эти приборы универсальными – они могут использоваться при работе с любым видом биопробы (плазма или цельная кровь, в том числе капиллярная кровь из пальца) в различных разбавлениях и с применением любых реактивов, в том числе непрозрачных.

Самые массовые коагулометры в России

Анализаторы показателей гемостаза ЭМКО [7] – наиболее распространенные коагулометры в России: только в 2007 году в лаборатории по Национальному проекту «ЗДОРОВЬЕ» было поставлено более 1200 приборов.

Эти коагулометры выпускаются в трех модификациях:

– двухканальный АПГ2-02 (2 измерительные ячейки, 4 ячейки для инкубирования, 2 ячейки для прогрева реактивов, включая ячейку для прогрева реактивов с магнитной мешалкой);

– двухканальный со встроенным принтером АПГ2-02-П (2 измерительные ячейки, 4 ячейки для инкубирования, 2 ячейки для прогрева реактивов, включая ячейку для прогрева реактивов с магнитной мешалкой, встроенный принтер);

– четырехканальный со встроенным принтером АПГ4-02-П (4 измерительные ячейки, 8 ячеек для инкубирования, 2 ячейки для прогрева реактивов, включая ячейку для прогрева реактивов с магнитной мешалкой, встроенный принтер).

Внешний вид одного из анализаторов представлен на рисунке 1.

Рис. 1. Двухканальный коагулометр ЭМКО с принтером (АПГ2-02-П).

Коагулометры представляют собой программируемые оптико-механические полуавтоматические анализаторы, в которых дозирование плазмы и реагентов осуществляется лаборантом, а измерение времени образования сгустка и пересчет времени свертывания в единицы теста выполняется прибором автоматически. В анализаторах реализовано два способа (метода) автоматического измерения времени образования фибринового сгустка: оптический и/или механический.

Оптический метод основан на регистрации резкого изменения оптической плотности биопробы вследствие образования фибринового сгустка. Оптический способ фиксации предпочтителен в тестах с разбавлением плазмы (определение концентрации фибриногена по Клаусу [21], протромбиновый тест по Квику [23] и пр.) поскольку в этом случае не образуется достаточно плотный фибриновый сгусток, способный остановить вращение шарика.

Механический метод основан на регистрации момента остановки вращения магнитной мешалки (стального шарика) за счёт изменения реологических свойств биопробы в ходе реакции. Механический способ наиболее физиологично моделирует образование тромба: остановка вращения шарика, может быть

однозначно интерпретирована, как момент образования сгустка. Поэтому в качестве референтного метода целесообразно использовать механический способ регистрации времени свёртывания.

В анализаторах показателей гемостаза ЭМКО определение времени свёртывания по изменению оптической плотности сопоставляется с результатами механического способа определения, что даёт высокую достоверность результатов измерений, как при механическом, так и при оптическом способах [15].

Коагулометры запрограммированы на автоматическое выполнение 16 коагулологических методик (тестов):

Основные (скрининговые) тесты:

1. Протромбиновый тест (ПВ, ПО, МНО, % по Квику)
2. АЧТВ/АПТВ (время, отношение)
3. Концентрация фибриногена по Клауссу (в г/л)
4. Тромбиновое время (время, отношение)

Дополнительные тесты:

5. Активность фактора VIII (в %)
6. Активность фактора IX (в %)
7. Активность протеина С (в НО)
8. Активность антитромбина (в %)
9. Активность фактора II (в %)
10. Активность фактора V (в %)
11. Активность фактора VII (в %)
12. Активность фактора X (в %)
13. Активность фактора XI (в %)
14. Активность фактора XII (в %)
15. Тромбин-гепариновое время свертывания (в %)
16. Время свертывания (произвольный режим)

В анализаторах применена оригинальная одноразовая микрокювета [4], рассчитанная на проведение измерений с объемом пробы всего 50 мкл, допустимо проведение измерений и с меньшим объемом пробы: 25 мкл – механическим методом, 35 мкл – оптическим [5]. Применение микрокюветы даёт возможность экономии реагентов (в 2 раза при штатном объеме пробы в 50 мкл) и проведения большего числа анализов при меньшем количестве забираемой крови.

Коагулометры ЭМКО имеют функцию автозапуска (автостарта) – автоматическое начало отсчёта времени измерения после добавления последнего реагента в пробу любым дозатором (пипеткой). Функция автостарта реализована по изменению объема исследуемой жидкости от 25 до 100–200 мкл. в зависимости от вида исследования.

Высокая воспроизводимость результатов измерений обеспечивается: особенностями конструкции одноразовой микрокюветы, эффективным перемешиванием реакционной смеси (пробы и реактивов), высокоточным независимым поддержанием температуры в измерительных модулях, и

методически – за счёт предварительного прогрева пустой кюветы и использования автостарта.

Энергонезависимая память обеспечивает сохранение результатов 1000 последних измерений, включая калибровочные графики (до 5 точек), контрольные значения и параметры теста (вид биопробы, метод регистрации, время инкубации, коэффициент вариации и пр.) с возможностью последующей распечатки на встроенном принтере.

Анализаторы показателей гемостаза ЭМКО осуществляют контроль качества измерений по вычислению коэффициента вариации (CV в %) между каналами. При проведении измерений в двух каналах одновременно (парное измерение одной и той же биопробы) осуществляется расчет среднего значения. В приборах реализован автоматический контроль качества калибровок: при неверной калибровке анализатор выдаёт соответствующее сообщение-подсказку и не позволяет проводить дальнейшие измерения. Встроенный принтер даёт возможность распечатать результаты измерений, включая основные параметры теста.

Коагулометры комплектуются микрокюветами с шариками, двумя штативами для кювет и диспенсером (устройством для подачи шарика в микрокювету).

Анализаторы обладают высокими метрологическими характеристиками, что подтверждают проведенные сравнительные испытания с лучшими зарубежными образцами: «STA Compact» (фирмы «Diagnostica Stago», Франция), «CA-560» (фирмы «Sysmex», Япония), «Coagulometr CL4» (фирмы «Behnk Elektronik», Германия), «ACL 9000» (фирмы «IL», США).

Конструктивные решения и технология производства приборов позволили установить гарантийный срок в 4 года. Стоимость коагулометров и расходных материалов к ним значительно (в 2-3 раза) дешевле импортных аналогов.

Анализаторы ЭМКО – открытая система, они совместимы с любыми наборами реагентов независимо от производителя: НПО «Ренам» (Москва), ООО «Технология-Стандарт» (Барнаул), «Technoclone» (Австрия), «МедиоЛаб» (Канада) и другие.

ООО ЭМКО в 2008г. зарегистрированы и серийно выпускаются наборы реагентов для скрининговых тестов системы гемостаза: «МЛТ-АЧТВ», «МЛТ-ТРОМБОПЛАСТИН», «МЛТ-ТРОМБИН», «МЛТ-ФИБРИНОГЕН». В настоящее время, с помощью этих реагентов осуществляется тестирование коагулометров ЭМКО.

Преаналитический этап [3,8,12,16]

Преаналитическая стадия – общее понятие, относящееся ко всем процессам, происходящим непосредственно перед лабораторным анализом. Условия, в которых находится исследуемый образец до выполнения теста, оказывает решающее влияние на надежность и достоверность результатов теста [12,16].

Образец крови – кровь, полученная от пациента. Это может быть венозная, артериальная или капиллярная кровь.

Исследуемый образец – это материал, полученный после специальной обработки образца крови.

Для коагулологических тестов исследуемым образцом может являться: цитратная кровь (для определения времени рекальцификации и активированного времени свертывания), цитратная плазма, полученная центрифугированием из цитратной венозной крови (для большинства коагуляционных тестов), капиллярная кровь (для определения протромбинового времени) [3,12,16].

Цитратная кровь

После забора кровь может быть в жидком состоянии только после добавления антикоагулянтных веществ, т.е. веществ, предотвращающих свертывание. В коагулологии таким веществом является цитрат натрия, который предотвращает свертывание за счет связывания ионов кальция. Другие антикоагулянты: ЭДТА, гепарин, оксалат натрия и пр. не пригодны, так как оказывают влияние на активность факторов свертывания.

Особенности забора крови [12]:

1. Время – утром с 7 до 10 часов.

2. Место – кровь забирается из локтевой вены.

3. Антикоагулянт – цитрат натрия.

4. Способ забора – кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 0,109 М раствор цитрата натрия лимоннокислого 3-х замещенного (3,2% раствор 2-водной соли, или 3,8% 5,5-водной соли). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1.

Следует учитывать, что на показатели системы гемостаза оказывают также влияние следующие факторы: эмоциональные переживания (состояние стресса), положение тела пациента, характер пищи (диета), пол и возраст пациента, биоритмы (день/ночь), этнические и географические особенности, беременность, различные заболевания, лекарственные препараты.

Забор крови должен быть приурочен ко времени исследования, чтобы свести до минимума время хранения проб. Рекомендуется осуществлять забор крови на исследование утром. Необязательно брать строго натощак, можно рекомендовать пациенту легкий завтрак, но без жирной пищи. Кроме того, рекомендуется осуществлять забор у пациентов, отдохнувших не менее 15 минут после незначительной физической нагрузки.

Правильная процедура забора крови и источники ошибок [12,16]:

1. Наложение жгута. Цель наложения жгута при заборе крови – предотвратить обратный ток венозной крови при сохранении кровотока в капиллярах. Это значит, что давление жгута (манжеты) должно быть ниже диастолического кровяного давления, но выше давления в периферических венах. Жгут или манжета налагается не более чем на 60 секунд. Источник ошибок – если жгут наложен на слишком длительное время (более 3 минут) или с избыточным давлением, это может вести к локальной активации фибринолиза и, таким образом, к возрастанию активности факторов свертывания.

2. Венопункция – после дезинфекции кожи вена пунктируется. Кровь берут из локтевой вены силиконированной иглой с широким просветом (внутренний диаметр 1,0 – 0,8 – 0,6), без шприца (самотеком по стенке пробирки). Источники ошибок – в случае трудных вен или длительных попыток пунктирования, в пробирку попадает большое количество тканевого фактора (тромбопластина). Использование шприца для забора крови недопустимо. Если кровь брать шприцом слишком быстро, то из-за турбулентного движения крови в шприце и смешивания ее с воздухом (вспенивание) происходит активация тромбоцитов (изменение формы тромбоцитов и высвобождение тромбоцитарных факторов) и факторов свертывания. Если кровь брать медленно, то в шприце может начаться необратимое свертывание, опять же с активацией факторов гемостаза. В современной лабораторной практике используются системы вакуумного забора крови – вакутейнеры или вакуэты. Активация гемостаза в них предотвращается за счет моментального смешивания поступающей крови с раствором цитрата натрия.

3. Выбрасывание первой порции крови – при прокалывании иглой вены тканевый тромбопластин попадает с током крови в пробирку, поэтому первая порция крови не годится для проведения коагулологический тестов. Кровь для гемостаза желательно брать во вторую пробирку, первую использовать, например, для биохимии. Источник ошибок – содержащийся в первой порции крови тканевый тромбопластин может влиять на результаты исследования.

4. Ток крови – важно убедиться, что игла находится в вене так, что ничего не препятствует свободному току крови. Кровь должна течь быстро и самотеком. Источники ошибок – если кровь течет слишком быстро, это может повредить тромбоциты (высвобождение тромбоцитарных факторов) или эритроциты (наступит гемолиз); если кровь течет слишком медленно, может иметь место свертывание крови с образованием как видимого, так и невидимого сгустка; если вытекает слишком мало крови, то не соблюдается соотношение кровь/цитрат, и результаты будут также неправильными.

5. Перемешивание – кровь должна быть смешана с цитратом натрия немедленно после забора. Перемешивание производится аккуратным переворачиванием закрытой пробирки не менее 3-х раз. Встряхивание недопустимо! Источники ошибок на данном этапе:

– *неправильный выбор антикоагулянта*. Для исследования гемостаза подходит только цитрата натрия лимоннокислого 3-х замещенного (3,2% раствор 2-водной соли, или 3,8% 5,5-водной соли). Данный цитрат натрия обладает способностью стабилизировать лабильные факторы свертывания – V и VIII. Хранение раствора цитрата натрия допускается в течение 1 недели при температуре +2 – +8 ºС. Более длительное хранение приводит к бактериальному загрязнению и снижению концентрации цитрата. А, следовательно, к неправильному соотношению кровь – антикоагулянт и неправильному анализу.

– нарушение соотношение крови и цитрата натрия. Принятое соотношение крови и цитрата 9:1 (9 частей крови и 1 часть цитрата натрия) верно 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 создается избыточная концентрация цитрата, приводящая к “ложной” гипокоагуляции

(удлинение времени свертывания). При снижении гематокрита (ниже 35%), напротив, обнаруживается “ложная” гиперкоагуляция, и кровь может свернуться в пробирке еще до проведения исследования. Высокий гематокрит – физиологическая характеристика крови новорожденных, у взрослых возникает при полицитемиях (эритремиях), сердечной недостаточности. Пересчет соотношения объемов крови и цитрата позволяет избежать этой ошибки [17].

Таблица 1. Соотношение объемов раствора цитрата натрия и крови в зависимости от показателя гематокрита

Показатель гематокрита, %	Раствор цитрата натрия, мл	Объем крови вместе с цитратом натрия, 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

– *плохое или недостаточное перемешивание* крови с цитратом натрия. Для предотвращения этого необходимо после заполнения пробирки кровью до требуемого объема закрыть ее крышкой и 3 раза медленно перевернуть (не встряхивая). Встряхивание может вызвать денатурацию белков и активацию тромбоцитов. В пробе, не закрытой крышкой, возрастает pH из-за потери CO_2 (увеличение времени свертывания).

6. *Хранение.* Стабилизированную кровь, до центрифугирования хранят при температуре +18-+25 ºС не более 45 минут. Кровь нельзя хранить во льду, так как это может привести к холодовой активации фактора VII.

7. Транспортировка. В случае необходимости транспортировки крови ее необходимо забирать в СТАД пробирки, содержащие цитрат натрия, теофилин, аденозин, дипиридамол. Три последние вещества предотвращают активацию тромбоцитов. Это препятствует как агрегации тромбоцитов, так и высвобождению тромбоцитарных факторов в плазму крови. Транспортировка крови на большие расстояния и ее частое встряхивание искажает результаты анализа [12].

8. Дополнительная обработка. Для получения богатой или бедной тромбоцитами плазмы кровь центрифугируют [8].

В большинстве случаев (определение ПВ, ТВ, АЧТВ, концентрации фибриногена, активности АТ III, Протеина С и факторов свертывания, D-димеров), когда не предусматривается анализ функций тромбоцитов и определение волчаночного антикоагулянта (ВА) требуется получение бедной тромбоцитами плазмы. Бедная тромбоцитами плазма получается путем однократного центрифугирования цитратной крови при 3000 об/мин (1200-1500g) в течение 15 минут.

Полученную таким образом плазму рекомендуется хранить при комнатной температуре +18–+25°С, если ее предполагают использовать для определения протромбинового времени и других тестов на его основе, анализа активности фактора VII или для исследования функций тромбоцитов, т.к. при температуре +2–+8°С происходит холодовая активация фактора VII и укорочение времени свертывания.

Для проведения всех прочих тестов плазму хранить при температуре +2–+8°С.

Время хранения плазмы при комнатной температуре – не более 2 часов, при температуре +2–+8°С не более 4 часов. Допускается однократное замораживание проб бедной тромбоцитами плазмы при температуре минус 20–40°С на срок до нескольких недель без значительной потери активности факторов свертывания крови. Размораживание плазмы осуществлять при температуре +37°С, повторная заморозка недопустима.

Капиллярная кровь [12,17]

Капиллярная кровь как диагностический материал имеет ограниченное значение. Для большинства коагуляционных тестов капиллярная кровь является неподходящим материалом, так в этом случае возрастает риск активации свертывания и разведения пробы тканевой жидкостью. Для избежания неверных результатов капиллярная кровь может использоваться только для специально адаптированных методов, таких как – определение протромбинового времени. Определение ПВ в капиллярной крови особенно часто используется для долговременного мониторинга терапии оральными антикоагулянтами, а также для экспресс-диагностики и у детей первых месяцев жизни. В этом случае использование капиллярной крови из пальца (из пятки у новорожденных) позволяет избежать повторного травмирования и тромбирования вен, а также затрат времени на центрифугирование крови.

Правильная процедура забора капиллярной крови и источники ошибок:

1. Пункция – осуществляется стерильным скарификатором. Палец предварительно протирают спиртом. Кровь обычно берут из боковой поверхности мякоти концевой фаланги четвертого пальца левой руки, ориентируя плоскость скарификатора перпендикулярно плоскости пальца, рассекая кожу поперек дактилоскопических линий.

2. Выбрасывание первых капель крови – первую каплю крови убирают безворсовым материалом, так как в ней содержится тромбопластин, следующие используют для анализа.

3. Ток крови – прокол должен быть достаточно глубоким, чтобы кровь текла самотеком. Кровь берется в стерильный стеклянный капилляр объемом ~ 100 мкл (например, капилляр Панченкова). Не допускается давление и сжатие пальца. Поскольку это увеличивает поступление в капиллярную кровь тканевой жидкости, что искажает результаты анализа.

3. Забор капиллярной крови – необходимое количество крови забирается в стерильный капилляр в течение 10 секунд. При прохождении крови через поврежденную ткань активируется свертывание, длительность взятия крови является критическим показателем.

4. Перемешивание – капиллярная кровь при взятии в пробирку с цитратом должна быть перемешана во время или сразу после взятия. Капиллярную кровь следует смешивать с раствором цитрата натрия в пластиковых пробирках, например, в пластиковых пробирках типа Эппендорф с крышкой, в соотношении 9:1 (9 частей капиллярной крови и 1 часть цитрата натрия). Пробирка закрывается крышкой и затем осуществляется медленное перемешивание. Для этого достаточно 3 раза перевернуть пробирку (не встряхивать).

5. Хранение – цитратной капиллярной крови осуществляется при температуре +18-+25ºС не более 45 минут. Рекомендуется образец капиллярной крови анализировать на коагулометре сразу после забора.

Основные проблемы при работе с капиллярной кровью:

1. При прохождении крови через поврежденную ткань активируется свертывание.

2. Длительность взятия крови является критическим показателем. Кровь, вытекающая самотеком, должна быть забрана в стерильный капилляр и перенесена в пробирку с раствором цитрата натрия в течение 10 секунд.

3. Влияние гематокрита на результаты анализа.

Аналитический этап [3,12,16]

Аналитический этап – общее понятие, включающее в себя непосредственно проведение любого анализа.

Дозирование

Неотъемлемой частью аналитического этапа коагуляционного анализа является дозирование исследуемого образца и реагентов. Дозирование плазмы и реагентов рекомендуется проводить современными механическими дозаторами, использование стеклянных пипеток не приемлемо. Механические пипеточные дозаторы имеют высокую точность дозирования, удобны в работе и обеспечивают высокую производительность процесса дозирования. Основные ошибки, связанные с применением механических пипеточных дозаторов: неправильное нажатие кнопки забора/сброса жидкости или неправильный метод дозирования.

Забор и дозирование точных объемов жидкости происходит при движении кнопки между тремя позициями (рис. 2): 1-я позиция (готовности) – в верхней точке; 2-я позиция – в промежуточной точке; 3-я позиция – в нижней точке движения кнопки забора/сброса жидкости.

1-я позиция (исходное положение)

2-я позиция (промежуточное положение)

3-я позиция (нижнее положение)

Рис. 2 Функциональные позиции кнопки пипетки.

После установки требуемого объема дозирования (для дозаторов переменного объема дозируемые значения показываются в окошке, расположенном на корпусе пипетки), легким вращательным движением закрепите наконечник на конусообразном конце пипетки. Далее осуществляйте дозирование.

Самая распространенная ошибка – игнорирование 2-ой позиции кнопки пипетки, когда осуществляется сопротивление после плавного хода кнопки забора/сброса жидкости.

Для работы с вязкими (плазма или кровь) и пенящимися растворами, а также для дозирования малых объемов (100 мкл и менее) рекомендуется применять технику обратного дозирования (пипетирования) – частичное вытеснение жидкости из наконечника:

1. Нажмите большим пальцем на кнопку пипетки, переместив ее в 3-ю позицию.

2. Погрузите наконечник пипетки в раствор на глубину около 1 см и медленно отпустите кнопку возвращая ее в 1-ю позицию (стартовую позицию). Это приведет к набору в наконечник большего объема жидкости, чем установленный. Выньте пипетку из раствора, коснувшись кончиком наконечника края резервуара с раствором (например, пробирка с пробой или флакона с реагентом) для удаления избытка жидкости снаружи наконечника.

3. Отдозируйте набранную жидкость в приемный сосуд (например, в кювету), мягко нажимая на кнопку пипетки до 2-ой позиции. Отдозированный, таким образом, объем раствора будет в точности соответствовать заданному на пипетке объему.

4. Удерживая кнопку пипетки во 2-ой позиции, выньте пипетку из приемного сосуда (кюветы), перенесите пипетку в емкость для отходов и, нажав кнопку до 3-й позиции, удалите оставшуюся в наконечнике жидкость.

Все модели пипеток имеют встроенный сбрасыватель одноразовых наконечников. Смена наконечника осуществляется нажатием на соответствующую кнопку сброса, расположенной на корпусе пипетки.

<u>Рекомендации по дозированию:</u>

- Набирайте жидкость в пипетку только при хорошо закрепленном на пипетке наконечнике.
- Чтобы избежать перекрестного загрязнения, всегда переносите оставшуюся в наконечнике жидкость в емкость для отходов, а не в резервуар с набираемым раствором.
- При дозировании пипетка должна находиться в вертикальном положении и наконечник ее должен быть погружен в раствор на несколько миллиметров.
- Рекомендуется предварительное 3-х кратное прополаскивание наконечника намеченной для дозирования жидкостью.
- Всегда нажимайте на кнопку пипетки большим пальцем.
- Дозируемая жидкость, наконечник и сама пипетка должны иметь одинаковую температуру.

• Предварительно ополаскивайте наконечник несколько раз в тех случаях, когда температура пипетируемой жидкости отлична от температуры окружающей среды.

• Протирание наконечника не допустимо. Для удаления избытка жидкости снаружи наконечника выньте пипетку из раствора, коснувшись кончиком наконечника края резервуара с раствором (например, пробирки с пробой или флакона с реагентом).

• Используйте наконечник, соответствующий диапазону (объему) пипетки.

• Выбирайте правильную технику дозирования, т.е. технику пипетирования, соответствующую типу пипетируемой жидкости.

• Не нажимайте слишком сильно и резко, при этом вы пропустите промежуточное положение кнопки и неправильно отдозируете.

• Используйте только чистые и сухие одноразовые наконечники. Даже небольшие загрязнения в наконечнике отрицательно повлияют на корректность дозирования и, следовательно, на результаты измерений.

• Регулярно проверяйте точность дозаторов.

• Наконечники дозатора одноразовые. Повторное их использование приводит к искажению результатов.

Выполнение анализа

По рекомендации Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) все коагулологические исследования должны выполняться в дубле (парные измерения). Парные измерения необходимы для устранения случайных ошибок. Коагулометры, имеющие более двух регистрирующих каналов (число каналов, как правило, кратно двум), предусматривают возможность дублированных определений и вычисление коэффициента вариации между парными каналами [15,17]. Это позволяет снизить вероятность недостоверного результата, поставить правильный диагноз или назначить лечение, а в некоторых случаях сохранить жизнь пациенту.

Для калибровки коагулометров используются стандартные образцы (контрольные плазмы) [12,13]. Стандартные образцы требуются для большинства коагуляционных тестов. Обычно на их основе делается серия разведений и строится калибровочный график. Как правило, для построения калибровочного графика достаточно 3-4 разведений. В соответствии с клиническими и аналитическими потребностями существуют следующие калибровочные растворы (контрольные плазмы):

– калибровочная плазма для установления активности протромбина, факторов протромбинового комплекса и всех факторов свертывания, определяемых коагуляционными методами;

– калибровочная плазма для установления концентрации фибриногена;

– калибровочная плазма для установления МНО (плазма получена от пациентов, принимающих оральные антикоагулянты) [13].

Для приготовления реагентов и контрольных материалов, необходимо использовать только дистиллированную, бидистиллированную или деионизованную

воду (указано в инструкции на соответствующий набор реагентов). При долгом хранении дистиллированной воды возможен бактериальный рост. Желательно хранить дистиллированную воду не более 2-3 дней [8].

Методика выполнения анализа (теста) подробно описана в инструкции по применению на соответствующий набор реагентов. Диапазоны нормальных и патологических значений времени свертывания, как правило, указываются в паспорте на набор реагентов.

Сроки хранения и серия реагентов указаны в паспорте на соответствующий набор реагентов, на коробке и на каждом флаконе. Следите за сроком годности реактивов. Реагенты с истекшим сроком годности приводят к неправильным результатам анализа. Перед приготовлением реагентов обязательно сверяйте серийные номера на этикетках флаконов с номером серии реактива, указанном в паспорте. Реагенты хранятся в холодильнике при температуре +2-+8°С. Перед использованием реагентов следует выдержать их при комнатной температуре +18-+25°С в течение 30 минут.

Для того, чтобы каждое лабораторное исследование было максимально достоверным, в лаборатории обязательно должно вестись две системы контроля качества – внутренний и внешний контроль качества. Минимальный регламент проведения контроля качества установлен Приказами МЗ РФ №45 от 7.02.2000г. «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований» и Приказом №220 от 26.05.2003г. «Об утверждении отраслевого стандарта проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических исследований с использованием контрольных материалов».

Рекомендации по проведению скрининговых тестов [3,8,12]

Существует большое количество коагуляционных тестов. Наиболее распространенными и часто выполняемыми из них являются скрининговые (первичные) тесты: определение протромбинового времени (ПВ) (**внешний путь свёртывания**), активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) (**внутренний путь свёртывания**), тромбинового времени (ТВ), определение концентрации фибриногена по Клауссу (ФГ) (**общий путь свёртывания**). При выполнении этих тестов определяются не отдельные компоненты системы гемостаза, а функция целых каскадов процесса свертывания, т.е. совместная активность нескольких факторов.

При проведении всех тестов необходимо пользоваться одноразовыми кюветами и шариками. Повторное использование кювет и шариков недопустимо [15].

Рекомендации, позволяющие избежать наиболее типичных ошибок при определении протромбинового времени (ПВ):

1. Плазму, приготовленную для анализа протромбинового времени, следует хранить не более 2-х часов при комнатной температуре. Охлаждение плазмы вызывает холодовую активацию фактора VII и укорачивает время свертывания.

2. Необходимо понимать различия в способах выражения теста протромбинового времени (ПВ, ПО, % по Квику, МНО).

Для выражения результатов протромбинового теста используется:

1. Время свертывания (ПВ в секундах);

2. Протромбиновое отношение (ПО) по контрольному значению нормальной плазмы:

$$ПО = \frac{ПВ_{пациента}}{ПВ_{норм.}};$$

3. Процент протромбина от нормы по Квику (% по Квику), который определяется по калибровочному графику серии разведений контрольной плазмы.

4. Международное нормализованное отношение (МНО) по контрольному значению нормальной плазмы:

$$МНО = (ПО)^{МИЧ} = \left(\frac{ПВ_{пациента}}{ПВ_{норм.}}\right)^{МИЧ}$$

где МИЧ – международный индекс чувствительности тромбопластина (указан в паспорте на тромбопластин);

$ПВ_{норм.}$ – время свертывания контрольной нормальной плазмы;

$ПВ_{пациента}$ – время свертывания плазмы пациента;

Рекомендации, позволяющие избежать наиболее типичных ошибок при определении (АЧТВ):

1. Кровь нельзя брать через катетер, которым пользовались для инъекций гепарина. Происходит значительное увеличение АЧТВ из-за контаминации следами гепарина.

2. Нельзя использовать для анализов кровь с микросгустками, т.к. в такой крови уже начался процесс свертывания и АЧТВ будет укорочено.

3. Нельзя использовать для анализов частично гемолизованную кровь, т.к. при этом происходит изменение нормальной длительности АЧТВ более чем на 10%, т.к. продукты гемолиза эритроцитов обладают выраженным прокоагулянтным действием.

4. При взятии крови нельзя допускать травмирования прилежащих тканей и сосудов, т.к. при этом выделяются тканевые факторы, активизирующие свертывание крови и укорачивающие АЧТВ.

5. Плазму крови нельзя инкубировать при температуре 37 °С более 5 мин, чтобы не допустить инактивации лабильных V и VIII факторов свертывания крови.

6. Не рекомендуется использовать для приготовления раствора кальция хлористого аптечный раствор 0,025 М в ампулах, т.к. концентрация этого раствора, часто определена неточно.

Рекомендации, позволяющие избежать наиболее типичных ошибок при определении тромбинового времени (ТВ).

1. Кровь нельзя брать через катетер, которым пользовались для инъекций гепарина. Происходит значительное увеличение тромбинового времени из-за контаминации следами гепарина.

2. Раствор тромбина рекомендуется хранить в исходных флаконах, не переливать и не прогревать.

Рекомендации, позволяющие избежать наиболее типичных ошибок при определении концентрации фибриногена по Клаусу:

1. Метод определения фибриногена по Клауссу реализуем только с помощью коагулометров, ручной метод использовать нельзя.

2. Все исследуемые образцы плазмы необходимо разводить в 10 раз буфером для разведения образцов плазмы (1 часть плазмы и 9 частей буфера).

3. Раствор тромбина рекомендуется хранить в исходных флаконах, не переливать и не прогревать.

10 шагов правильной работы на коагулометрах ЭМКО

1. Установите нужный тест, например, ПРОТРОМБИНОВЫЙ ТЕСТ, и при необходимости откалибруйте анализатор согласно «Приложению к руководству по эксплуатации».

ВАЖНО!

При смене методики измерения или при начале работы с новой серией реактивов, заново проведите калибровку анализатора.

2. Подготовьте расходные материалы и принадлежности для коагулометра: кюветы с шариками, штативы для кювет и диспенсер.

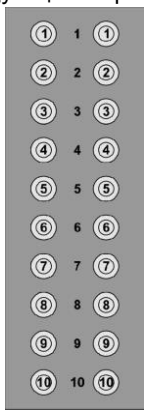
Кюветы и шарики

Штатив

Диспенсер

3. Подготовьте одноразовые кюветы для проведения измерений. Для этого необходимо расставить кюветы в штатив. С целью уменьшения ошибок при проведении анализа, ВОЗ рекомендует проводить коагулологические исследования в паре (дубле), поэтому одна и та же проба должна быть

отдозирована в две кюветы одновременно. Для удобства работы рекомендуется располагать пробы в штативе следующим образом:

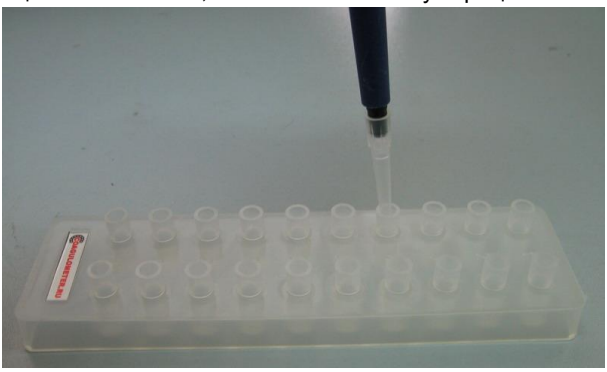


Рекомендуемое расположение (нумерация) проб в штативе

ВАЖНО!

Повторное использование кювет искажает результаты анализа.

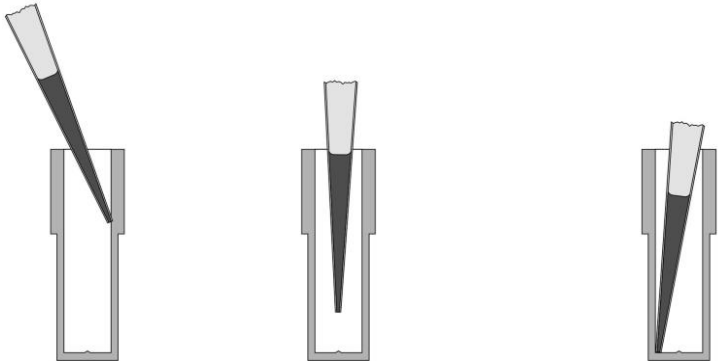
4. Произведите дозирование исследуемых образцов плазмы (50 мкл) в кюветы, находящиеся в штативе, в соответствии с нумерацией в п.3.



Внесение проб

ВАЖНО!

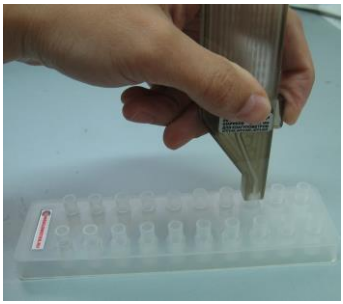
Рекомендуется использовать метод обратного дозирования. Другие способы дозирования могут вызывать образование пузырьков воздуха в пробе, и связанные с ними ошибки в работе анализатора (сообщение «Сбой» при начале измерения). Исследуемую пробу и реагенты следует дозировать, опуская наконечник полностью в кювету, как показано на рисунке «ПРАВИЛЬНО».



НЕПРАВИЛЬНО **ПРАВИЛЬНО**

При дозировании по стенке кюветы возможны случаи, когда проба или реагент останутся на стенке кюветы. Что может привести к ложным или преждевременным запускам функции автостарта, а также к появлению сообщения «Сбой» при начале измерения из-за недостаточного перемешивания пробы и реагента.

5. При помощи диспенсера внесите по одному шарику в кюветы. На данном этапе легко проконтролировать, что кювета содержит шарик.



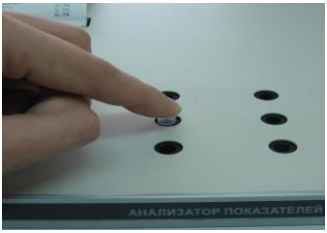
Внесение шарика

ВАЖНО!

Повторное использование шариков или их внесение в кювету руками или другими инструментами, например, пинцетом, искажает результаты анализа.

6. Поместите кювету с пробой и шариком в инкубатор предварительного прогрева (инкубации) пробы и слегка нажмите на нее сверху. Прибор сообщит о включении таймера инкубации звуковым сигналом и загорится индикатор «прогрев» соответствующего измерительного канала.

Поместить кювету



Нажать на кювету

7. По окончании предварительного прогрева перенесите кювету с пробой и шариком в измерительную ячейку.

Перенести кювету

8. Нажмите клавишу «СТАРТ» для активации соответствующего измерительного канала коагулометра.

ВАЖНО!

Функция автозапуска (автостарта) должна быть включена в главном Меню анализатора.

Нажать кнопку «СТАРТ»

9. Аккуратно внесите стартовый реагент (50-100 мкл в зависимости от вида анализа) при этом, автоматически начнется отсчет времени свертывания исследуемого образца.

ВАЖНО!

Время между нажатием кнопки СТАРТ и внесением реагента не должно быть более 20 секунд.

Внести реагент

ВАЖНО!

Соблюдайте рекомендуемые объемы пробы и реактивов при проведении измерений. В зависимости от вида исследования объем реакционной смеси (проба + реагент) для коагулометров ЭМКО составляет:

для ПТ = **50 мкл пробы** + **100 мкл тромбопластин-кальциевой смеси**, прогретой при температуре +37ºС в течение 30 минут;

для ТВ = **50 мкл пробы** + **50 мкл тромбина** комнатной температуры +18-+25ºС;

для АЧТВ = **50 мкл пробы** + **50 мкл АЧТВ реагента** комнатной температуры +18-+25ºС + **50 мкл хлористого кальция**, прогретого при температуре +37ºС в течение 30 минут;

для Фибриногена = **100 мкл разведенной в 10 раз пробы** (10 мкл плазмы + 90 мкл буфера) + **50 мкл тромбина** комнатной температуры +18-+25ºС.

10. По окончании коагуляции прибор пересчитает измеренное время свертывания в соответствующие единицы теста (сек, ПО, МНО, % Квик, НО, г/л) покажет результат на дисплее и распечатает на принтере (при наличии встроенного принтера).

Результат на дисплее

Прикрепите распечатку результатов измерений к контрольной карте пациента или запишите показания прибора в контрольный лист пациента.

Бланк результата

ВАЖНО!

Не забывайте извлекать кюветы из измерительных ячеек анализатора после проведения измерения.

Регулярно (не реже чем раз в неделю) производите дезинфекцию анализатора.

Для предотвращения загрязнения (запыления) измерительных ячеек анализатора рекомендуется после завершения работы с ним вставить новые одноразовые кюветы в измерительные ячейки.

Сообщения – подсказки на дисплее коагулометров ЭМКО

Какие действия приводят к появлению сообщения-подсказки «СБОЙ»?

Сообщение «Сбой» – средство оповещения лаборанта о том, что при выполнении анализа произошла ошибка и результат недостоверен.

Сообщение «Сбой» появляется в следующих ситуациях:

1. В кювете с пробой отсутствует шарик.

Решение: перед проведением измерения внести в кювету с исследуемой пробой шарик с помощью диспенсера (дозатора шариков).

2. Используется капиллярная кровь в режиме ПРОБА-ПЛАЗМА.

Решение: проверить настройки протромбинового теста, установить параметры – проба-кровь, метод-механика.

3. При дозировании реактива в реакционной смеси образовался воздушный пузырь.

Решение: при дозировании пробы и реактива используйте только чистый и сухой одноразовый наконечник, дозирование жидкости осуществляйте, используя метод обратного дозирования.

4. Лаборант чрезмерно долго удерживает наконечник дозатора в кювете.

Решение: не удерживайте наконечник в кювете более 2 секунд.

5. Повторное использование шариков и кювет.

Решение: используйте только одноразовые кюветы.

6. Сильные вибрации на рабочем столе, где размещен анализатор.

Решение: проверьте, не размещены ли на одном рабочем столе с коагулометром центрифуги или оборудование с форвакуумными насосами.

7. Внесение стартового реагента и одновременное нажатие кнопки «СТАРТ» при включенной функции автозапуска (АВТОСТАРТА).

Решение: дозирование стартового реагента необходимо осуществлять не ранее, чем через 3 сек после активации функции автостарта; при работе с капиллярной кровью – выключите функцию автозапуска.

Какие действия приводят к появлению сообщения «Калибровка Недействительна»?

Сообщение «Калибровка Недействительна» – средство оповещения лаборанта о том, что при выполнении калибровки обнаружена ошибка и результат недостоверен. Анализатор не позволит использовать некачественную калибровку.

Сообщение «Калибровка Недействительна» появляется в следующих ситуациях:

1. Допущена ошибка при вводе значений разведений калибровочного графика.
2. Неправильная подготовка серии разведений калибровочной плазмы (ошибки при дозировании).
3. Не соблюдается последовательность измерения для каждого разведения калибровочной плазмы (перепутывание разведений).

Решение: Нажмите кнопку «Отмена» и запишите полученные значения. Для выяснения причины ошибки постройте калибровку на координатной сетке набора реагентов. Затем проведите калибровку прибора заново.

Литература

1. Андреев Е.М., Кваша Е.А., Харькова Т.Л., Ожидать быстрого снижения смертности в России не приходится, Вопросы статистики, №11, 2003г, с.13-27.
2. Атеротромбоз – ведущая причина возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, Национальное общество по атеротромбозу, сайт: http://www.noat.ru.
3. Баркаган З.С., Момот А.П., Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза, М: 2001, с.10-50.
4. Безруков А.В., Кутепов М.В., Шибанов А.Н., Кювета для определения времени свертывания, патент RU №200419084, 7A61 B5/145, 2004.
5. Безруков А.В., Кутепов М.В., Шибанов А.Н., Минимизация объема пробы при проведении коагулологического исследования, Тромбоз, гемостаз и реология, №3, 2004г, с. 75-78
6. Безруков А.В., Кутепов М.В., Минченко Б.И., Аналитическая оценка коагулометра Минилаб 704., Лабораторная медицина, №8, 2006г.
7. Безруков А.В., Ованесов Е.Н., Новые программируемые анализаторы показателей гемостаза НПП "Техномедика", Лаборатория. №4, 2006 г. Москва.
8. Берковский А.Л., Качалова Н.Д., Козлов А.А., Сергеева Е.В., Простакова Т.М. Пособие для врачей-лаборантов по методам исследования плазменного гемостаза: АЧТВ, протромбиновый комплекс, тромбиновое время, фибриноген, 2008г., Москва.
9. Вишневский А.Г., Школьников В.М. Смертность в России: главные группы риска и приоритеты действия - М., 1997г., 84с, (научные доклады, Московский Центр Карнеги, вып.19).
10. Динамика смертности населения России, Статистический сборник 2005-2007гг., Официальное издание, Федеральная служба государственной статистики России, сайт http://www.gks.ru/free_doc/2007/b07_11/05-07.htm.
11. Добровольский А.Б., Косырев А.Б. Протромбиновый тест: методика выполнения и клиническое значение. II. Информационный бюлл. Ассоциации медицинской Лабораторной Диагностики, М., 1995, 34-38.
12. Долгов В.В., Свирин П.В., Лабораторная диагностика нарушений гемостаза, М., 2005г.
13. Дугина Т.Н., Косырев А.Б., Стандартизация протромбинового теста: проблема контрольной плазмы. Лабораторная медицина 2003, № 6.
14. Косырев А.Б., Добровольский А.Б., Современные методы лабораторного контроля антикоагулянтной терапии, научно-практический журнал Лабораторные новости Дальнего Востока, №1, 1999г.
15. Кутепов М.В., Разработка приборов для определения параметров системы гемостаза и их внедрение в клиническую практику, Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук, Москва, ГУН ВНИИИМТ МЗ РФ, 2005, с. 174.
16. Момот А.П., Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики, С-Пб.: ФормаТ, 2006, 208 с.
17. Мамаев А.Н, Классификационные признаки приборов, регистрирующих коагуляцию, Тромбоз, гемостаз и реология, №3, 2004г, с. 78-79.
18. Панченко Е.П.,
    Роль антитромботической терапии в профилактике ишемического

инсульта, http://www.noat.ru/site/lents?c=a&id=14&aid=33&mid=LEK, http://med-lib.ru/speclit/neuro/32.php.
19. Что такое Вафарин?, Национальное общество по атеротромбозу, сайт: http://www.noat.ru/site/lents?c=a&id=12&aid=71&mid=PAC.
20. ХарченкоВ.И., Какорина Е.П., Корякин М.В., Вирин М.М., Ундрицов,В.М., Смирнова Н.Л., Онищенко П.И., Потиевский Б.Г., Михайлова Р.Ю, Смертность от болезней системы кровообращения в России и в экономически развитых странах. Необходимость усиления кардиологической службы и модернизации медицинской статистики в РФ, Российский кардиологический журнал, №2, 2005г.
21. Clauss A. Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. Acta Haemat., 1957, 17, 237-246.
22. Horton J.D., Bushwick B.M. Warfarin therapy: evolving strategies in anticoagulation, Amer. Farm. Physician., 1999., Vol. 59, № 3, p. 635-646.
23. Quik A.J. Hemorragic diseases and thrombosis. Philadelphia: Lea and Fabigar; 1966.
24. Oral anticoagulants, Ed. L. Poller, J. Hirsh. – London-Sydney-Auscland: Arnold publ., 1996., 379p
25. Pineo G.F., Hull R.D. Anticoagulant management of venous thromboembolism, Medscape. Ortho., 1999, p. 1-21.
26. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations, WHO, Lab/99.1.Rev.1, 1999.

Приложение 1

Сводная таблица типичных ошибок при проведении коагулологического анализа.

Забор, транспортирование, хранение и обработка образцов критичны для получения правильных результатов коагуляционных тестов.

Наиболее частые источники ошибок преаналитического этапа:

Влияющие факторы могут присутствовать на следующих этапах:

1. Забор крови

– положение тела;
– метод забора, включая наложение жгута;
– контаминация;
– место венопунктирования;
– добавление антикоагулянта;
– перемешивание.

2. Транспортирование и хранение образцов

– способ транспортировки;
– температура;
– длительность транспортировки.

3. Обработка образцов

– центрифугирование;
– распределение по аликвотам (при необходимости);
– специальная обработка (замораживание, оттаивание, добавки).

Наиболее распространенные ошибки аналитического этапа:

– многократное применение одноразовой посуды;

– неправильное дозирование (неправильные метод дозирования, использование некалиброванных пипеточных дозаторов или стеклянных пипеток, повторное использование одноразовых наконечников для дозаторов);

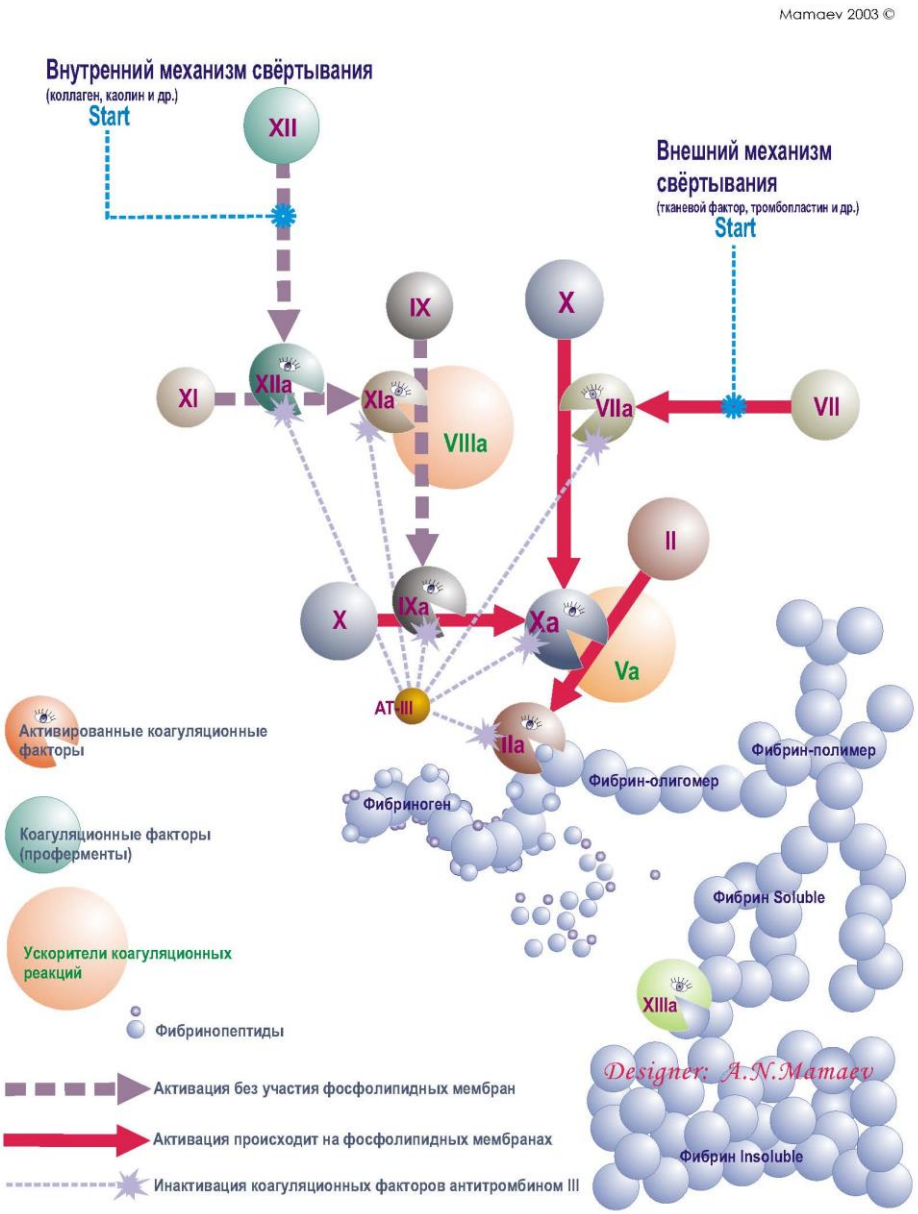
– повторное использование одноразовых кювет для коагулометров;

– неправильная температура или временной интервал инкубации при проведении тестов;

– неправильное выполнение методики коагулологического анализа.

Приложение 2

Схема свёртывания крови (А.Н. Мамаев, www.coagulometers.ru)



НОВАЯ РАЗРАБОТКА

ЭМКО МЛТ
ГРУППА КОМПАНИЙ ЭМКО

АНАЛИЗАТОРЫ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОСТАЗА ЭМКО

АПГ2-03-П, АПГ2-03-ПХ, АПГ4-03-П, АПГ4-03-ПХ

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Исследование плазмы или цельной крови (в том числе капиллярной)
- 21 методика определения показателей гемостаза
- Автоматический пересчет результатов анализа (ПИ, ПО, МНО, отношение, %, г/л, ед./мл.)
- Сенсорный графический экран (удобство управления и гибкость программирования)
- Система помощи (легкость освоения)
- Открытая система реагентов
- Штатный объем пробы всего 50 мкл
- Два или четыре независимых канала измерения
- Автоматический или ручной запуск измерения
- 2 или 4 ячейки для прогрева реагентов (одна или две ячейки с магнитной мешалкой)
- Построение калибровочных кривых (по 3-6 точкам)
- Сохранение в памяти параметров теста и калибровки
- Сохранение 10 000 результатов измерений
- Встроенная система контроля качества измерений в дубле и калибровок
- Контроль качества с построением контрольных карт и графическим представлением информации (согласно приказу №220 МЗ и СР РФ)
- Дополнительная ячейка для выполнения хромогенных тестов (конечная точка, длина волны 405 нм)
- Минимальный объем пробы для выполнения хромогенных тестов 0,5 мл
- Время измерения по конечной точке – 1 сек
- Наливные прямоугольные кюветы (длина оптического пути 10 мм)
- Интерфейс USB для подключения сканера штрих-кода
- Интерфейс Ethernet для организации сетевого доступа
- Встроенные часы/календарь (контроль текущей даты анализа и ведение контрольных карт)

21 МЕТОДИКА

16 клоттинговых:

Скрининговые тесты:

- протромбиновый тест (сек, ПО, МНО, % по Квику)
- АЧТВ / АПТВ (сек, отношение)
- тромбиновое время (сек, отношение)
- концентрация фибриногена по Клаусу (г/л)
- время свертывания (произвольный режим, сек)

Дополнительные:

- активность фактора VIII (%)
- активность фактора IX (%)
- активность системы протеина С (норм. отношение)
- активность антитромбина (%)
- активность фактора II (%)
- активность фактора V (%)
- активность фактора VII (%)
- активность фактора X (%)
- активность фактора XI (%)
- активность фактора XII (%)
- анти-Ха активность гепарина (ед./мл.)

5 Хромогенных:

- хромоген (произвольный тест по конечной точке)
- активность антитромбина (%)
- активность плазминогена (%)
- активность протеина С (%)
- анти-Ха активность гепарина (ед./мл.)

МОДИФИКАЦИИ

АПГ2-03-П – 2-х канальный, встроенный принтер;
АПГ4-03-П – 4-х канальный, встроенный принтер;
АПГ2-03-ПХ – 2-х канальный, встроенный принтер, дополнительный хромогенный канал;
АПГ4-03-ПХ – 4-х канальный, встроенный принтер, дополнительный хромогенный канал;

МЛТ ООО ЭМКО, ООО МЛТ, г. Москва, ул. Касаткина, 11, с.1;
тел. (495) 287-81-00, факс (495) 287-84-00; emco@bk.ru
COAGULOMETER.RU

НОВАЯ РАЗРАБОТКА

ЭМКО МЛТ
ГРУППА КОМПАНИЙ ЭМКО

ЭКОНОМИЧНЫЙ АВТОМАТИЧЕСКИЙ КОАГУЛОМЕТР ДЛЯ РУТИННЫХ ТЕСТОВ АПГ2-01-АВТО

АПГ2-01-АВТО – компактный автоматический анализатор показателей гемостаза (коагулометр) предназначен для определения рутинных параметров свертываемости крови: ПВ, ТВ, АЧТВ и концентрации фибриногена. При желании коагулометр может быть запрограммирован для измерения других показателей. Открытая система. Результаты анализа могут быть распечатаны на встроенном термопринтере или переданы на компьютер по сети Ethernet.

Технические характеристики:

Метод измерения -	клоттинговый (оптико-механический)
Тесты -	ПВ (МНО, % по Квику), АЧТВ, ТВ, Фибриноген (по Клауссу), Фактор VIII, Фактор IX, Фактор XII, Фактор II, Фактор V, Фактор VII, Фактор X, Антитромбин
Объем пробы -	50 мкл
Количество измерительных каналов -	2
Производительность -	40 тестов ПВ в час или 25 тестов АЧТВ в час
Количество загружаемых кювет -	40
Количество загружаемых образцов -	20 проб (в первичных пробирках 13x75 мм)
Количество ячеек для реагентов -	8 ячеек (4 ячейки при температуре 37,0 ± 0,5 °С, 2 из них с магнитной мешалкой, 4 ячейки при комнатной температуре)
Контроль качества -	встроенный контроль качества калибровок, построение карт Леви-Дженнингса (по приказу МЗ РФ №220 от 26.05.2003)
Энергонезависимая память -	10 000 результатов (включая параметры теста и калибровку)
Принтер	встроенный термопринтер (57 мм)
Считыватель штрих-кода -	внешний USB сканер штрих-кода
Локальная сеть -	Ethernet для подключения к ЛИС
Размеры -	520 x 500 x 420 мм
Питание -	~ 220 В, 50 Гц

- 12 клоттинговых тестов
- Низкая стоимость анализа
- Прекалиброванные реагенты
- Гарантия от ошибок лаборантов
- Считыватель штрих-кода
- Сенсорный дисплей
- Самотестирование

МЛТ ООО ЭМКО, ООО МЛТ, г. Москва, ул. Касаткина, 11, с.1;
тел. (495) 287-81-00, факс (495) 287-84-00; emco@bk.ru
COAGULOMETER.RU

ООО ЭМКО Электромеханическая компания

ПРИБОРЫ

Коагулометры ЭМКО

Оптико-механические двух- и четырехканальные АПГ2-02 (без принтера), АПГ2-02п и АПГ4-02п (с принтером), 16 методик по плазменному звену гемостаза, объем биопробы 50 мкл, экономия реагентов, простое и удобное программирование, автоматический запуск измерения любым дозатором, пересчет результатов анализа (ПИ, ПО, МНО, %, г/л), сохранение данных и калибровок дешевые расходные принадлежности

РЕАГЕНТЫ

Наборы реагентов серии МЛТ

МЛТ-тромбопластин - определение протромбинового времени (ПВ, ПИ, ПО, МНО, % по Квику) (600 определений).
МЛТ-АЧТВ - определение активированного частичного тромбопластинового времени (400 определений).
МЛТ-фибриноген - определение концентрации фибриногена методом Клауса (320 определений).
МЛТ-тромбин – определение тромбинового времени (ТВ) (400 определений)

Применимы для любых коагулометров, идеальны для коагулометров ЭМКО (не требуются калибровки). Высокая стабильность, низкая цена.

ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Дешёвые принадлежности

(кюветы с шариками, диспенсеры, штативы)

- ВСЁ ДЛЯ СКРИНИНГА ГЕМОСТАЗА ОТ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

129301, Москва, ул. Касаткина, д.11, стр.1; тел. (495) 287-8100, факс 287-8400 emco@bk.ru www.coagulometer.ru