

Контрольные материалы для лабораторного мониторинга действия непрямых антикоагулянтов

А.Л. Мелкумян

канд. мед. наук, научный сотрудник,

Е.В. Сергеева

руководитель отдела производства,

Н.Д. Качалова

канд. биол. наук, руководитель отдела контроля качества

А.Л. Берковский

канд. биол. наук, директор

НПО «РЕНАМ», Межрегиональная благотворительная

общественная организация инвалидов «Общество больных гемофилией»

Для профилактики и лечения (часто длительного) больных с риском тромбоэмболических заболеваний до сих пор в клинической практике широко применяются непрямые (анти-витамин К) оральные антикоагулянты (ОАК). Это обусловлено экономическим преимуществом данной группы препаратов перед более современными новыми оральными антикоагулянтами (НОАК), а также возможностью надежного лабораторного контроля действия ОАК в тесте протромбиновое время (ПВ), результаты которого выражаются в виде Международного нормализованного отношения (МНО). МНО – математическая величина, рекомендованная в 1983 году ВОЗ для сравнения результатов анализа протромбинового времени, полученных при использовании различных тромбопластинов, позволяющая правильно оценить дефицит факторов протромбинового комплекса и назначить адекватное лечение оральными антикоагулянтами.

Корректное определение МНО во многом зависит от правильности аттестации применяемого тромбопластина (ТП) по Международному индексу чувствительности (МИЧ). МИЧ является показателем чувствительности ТП, который стандартизует его относительно международного стандарта. Используемые готовые реагенты ТП могут варьировать по активности, специфичности и чувствительности к факторам протромбинового комплекса, а также к факторам PIVKA (белкам, синтезируемым в отсутствие витамина К). Чувствительные ТП имеют величину МИЧ, близкую или равную 1,0, а менее чувствительные характеризуются большими значениями МИЧ. Значения МИЧ должны быть определены производителями для каждого реагента ТП. В настоящее время рекомендуется в диагностической практике использовать реагенты ТП с МИЧ менее 1,5. При мониторинге терапии ОАК наиболее адекватные результаты ПВ достигаются при использовании реагентов ТП со значениями МИЧ 1,0–1,2.

В качестве альтернативы при локальном определении МИЧ рекомендуют использовать сертифицированные лиофилизированные плазмы-калибраторы. Каждая лаборатория может откалибровать свою собственную локальную систему тромбопластин/коагулометр с использованием сертифицированных плазм или осуществить прямое измерение МНО. Важным применением сертифицированных плазм с установленными значениями МНО является выполнение внутренней и внешней оценки качества лабораторных исследований. Целью указанных методов является повышение надежности определения МНО.

Существует два типа сертифицированных плазм: плазмы, полученные от пациентов, находящихся на длительной анти-витамин К терапии (анти-витамин К плазмы) и плазмы с искусственным истощением по факторам протромбинового комплекса (II, VII, IX и X). Искусственно истощенные плазмы имеют ряд преимуществ, а именно: возможность их получения в значительных объемах, более широкий выбор значений ПВ, и снижение риска вирусной трансмиссии. Таким образом, применение лиофилизированных истощенных плазм является наиболее практичным подходом в клинико-диагностических лабораториях.

НПО «РЕНАМ» разработан контрольный материал – «Протромбин-Контроль», представляющий собой три пула плаз-

мы, полученных от не менее 20 доноров в возрасте 20–40 лет с искусственно сниженным в разной степени уровнем факторов протромбинового комплекса. Данные плазмы получены из пулированной донорской плазмы адсорбцией гидроксидом алюминия с последующим добавлением нормальной плазмы и лиофилизацией. Плазмы аттестованы по МНО в соответствии со схемой, изложенной в материалах EUR 21060EN Европейской комиссии объединенного исследовательского центра (European Commission DG Joint Research Centre) с головным учреждением «Институт референсных материалов и измерений», Бельгия (Institute for Reference Materials and Measurements), и на основании рекомендаций Международного общества тромбоза и гемостаза (International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH)).

Правильность результатов тестирования плазм «Протромбин-Контроль» была проверена предоставлением соответствующих материалов наших разработчиков в NEQAS (национальная программа внешнего контроля качества, Великобритания), в федеральную систему внешней оценки качества (Россия) и ECAT Foundation (внешний контроль качества диагностических анализов и тестов, Нидерланды). Проведенный объективный внешний контроль качества свидетельствует о соответствии наших результатов тестирования с результатами анализа изучаемых показателей по консенсусному принципу во всех трех указанных программах.

Плазмы «Протромбин-Контроль» могут применяться в качестве референтных материалов для тестирования плазм пациентов, получающих ОАК. Для этого определяют зависимость между величинами МНО и значениями локального ПВ, которую используют затем для определения МНО исследуемых плазм пациентов.

При внутреннем контроле качества лабораторного исследования ПВ «Протромбин-Контроль» анализируется одновременно с исследуемыми плазмами с использованием различных наборов ТП, аттестованных по МИЧ. Исследуемый контрольный материал должен укладываться в диапазон значений, указанных в паспорте на данную серию реагента.

Набор плазм «Протромбин-Контроль» состоит из трех лиофилизированных искусственно истощенных плазм с соответствующими уровнями сертифицированного МНО, который позволяет контролировать правильность определения МНО

практически во всем терапевтическом диапазоне применения оральных антикоагулянтов. МНО в плазмах «Протромбин-Контроль» находится в пределах:

- ~ уровень 1 – МНО = 1,3–2,1;
- ~ уровень 2 – МНО = 2,2–3,3;
- ~ уровень 3 – МНО = 3,5–5,0.

Применение плазм «Протромбин-контроль» позволит точнее оценивать эффективность и безопасность применения ОАК. Помимо контроля правильности и воспроизводимости результатов определения МНО «Протромбин-Контроль» предназначен также для определения протромбина по Квику, %. Последний определяется по калибровочной прямой, построенной с использованием разных разведений плазмы Протромбин-Калибратор и сравнивается с аттестованными значениями, указанными в паспорте на набор. МНО и протромбин по Квику коррелируют отрицательно – снижение протромбина по Квику соответствует повышению МНО.

«Протромбин-контроль» является российским аналогом контрольных материалов иностранного производства. Лиофилизированные, сертифицированные по МНО и протромбину по Квику плазмы «Протромбин-Контроль» рекомендованы для стандартизации теста ПВ и проведения мониторинга антикоагулянтной терапии у больных, получающих ОАК.

Корректное определение МНО в исследуемых плазмах требует знания не только МИЧ используемого ТП, но и величины среднего нормального ПВ (МНРТ или ПВ100%). Для определения этого показателя НПО «РЕНАМ» предлагает плазму «Протромбин – Калибратор». Эта плазма используется также для построения калибровочного графика зависимости ПВ (сек) от протромбина по Квику, %. Среднее нормальное ПВ (ПВ100%) представляет собой среднее геометрическое результатов определения ПВ в плазмах не менее 20 здоровых доноров. ПВ100% рассчитывают, определив величину ПВ в плазме «Протромбин-Калибратор» и используя значение протромбинового отношения (ПО), указанное в паспорте к данному набору. При определении протромбина по Квику строится калибровочный график с использованием разведений плазмы «Протромбин-Калибратор». Определяют ПВ в исследуемых образцах и по графику рассчитывают процент протромбина по Квику. Калибровка прибора должна проводиться при каждой смене серии

реагента, либо при неудовлетворительных результатах проведения контроля качества. Для вычислений вручную используют линелизацию графика в координатах «1/% протромбина – время свертывания».

НПО «РЕНАМ» предлагает все необходимые реагенты, контрольные и калибровочные материалы для проведения коагулологических исследований при антикоагулянтной терапии, включая плазмы «Протромбин-контроль: плазма контрольная для контроля правильности определения МНО при терапии оральными антикоагулянтами» (кат. № КМ-17) и «Протромбин-калибратор: плазма калибратор для определения МНО, протромбина по Квику» (кат. № КМ-18).