

КОАГУЛОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.151.55-074:615.471

Петрова О.В.^{1,2}, Уртаева З.А.¹, Шашин С.А.^{1,2}, Мурыгина О.И.¹, Тарасов Д.Г.^{1,2}

РЕФЕРЕНСНЫЕ ИНТЕРВАЛЫ АНТИТРОМБИНА III У НАСЕЛЕНИЯ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ АВТОМАТИЧЕСКИХ КОАГУЛОМЕТРОВ

¹ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» Минздрава России, 414011, г. Астрахань; ²ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, 414000, г. Астрахань, Российская Федерация

Зарубежные и отечественные профессиональные сообщества по лабораторной диагностике рекомендуют каждой лаборатории разработать свои или подтвердить имеющиеся в литературе референсные интервалы для каждого лабораторного показателя. Мы установили референсный интервал антитромбина III у взрослого населения Астраханской области согласно имеющимся стандартам на автоматических коагулометрах «ACL 9000» («Instrumentation Laboratory», США) и «STA Compact» («Diagnostica Stago», Франция). Полученные данные мы сопоставили с данными, представленными в инструкциях к наборам реактивов для определения антитромбина III и справочной литературе. Референсный интервал АТ III у взрослого населения Астраханской области не зависит от пола и возраста и сопоставим с референсными интервалами, указанными в инструкциях к наборам реактивов для определения активности АТ III фирм-производителей «Instrumentation Laboratory» (США) и «Diagnostica Stago» (Франция) и в справочной литературе. Референсные интервалы АТ III, указанные в инструкциях к наборам реактивов фирм-производителей «Instrumentation Laboratory» (США) и «Diagnostica Stago» (Франция) и в справочной литературе, могут быть использованы для интерпретации результатов определения активности АТ III на автоматических коагулометрах «ACL 9000» («Instrumentation Laboratory», США) и «STA Compact» («Diagnostica Stago», Франция) у взрослого населения Астраханской области.

Ключевые слова: референсный интервал; антитромбин III; автоматический коагулометр «ACL 9000» («Instrumentation Laboratory», США); автоматический коагулометр «STA Compact» («Diagnostica Stago», Франция); взрослое население Астраханской области.

Для цитирования: Петрова О.В., Уртаева З.А., Шашин С.А., Мурыгина О.И., Тарасов Д.Г. Референсные интервалы антитромбина III у населения Астраханской области при применении автоматических коагулометров. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (7): 429-432

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-7-429-432

Petrova O.V.^{1,2}, Urtaeva Z.A.¹, Shashin S.A.^{1,2}, Murygina O.I.¹, Tarasov D.G.^{1,2}

THE REFERENCE INTERVALS OF ANTITHROMBIN III IN POPULATION OF THE ASTRAKHANSKAIA OBLAST AT APPLICATION OF AUTOMATED COAGULOMETERS

¹The Federal center of cardiovascular surgery of Minzdrav of Russia, 414011 Astrakhan, Russia; ²The Astrakhanskii state medical university of Minzdrav of Russia, 414000 Astrakhan, Russia

The foreign and national professional societies of laboratory diagnostic recommend to every laboratory to develop own or substantiate available in literature reference intervals for every laboratory index. The reference interval of antithrombin III was established for adult population of the Astrakhanskaia oblast according available standards on automated coagulometers "ACL 9000" (Instrumentation Laboratory, USA) and "STA Compact" (Diagnostica Stago, France). The received data were compared with data present in instructions to reactive kits for detection of antithrombin III and reference literature. The reference interval AT III in adult population of the Astrakhanskaia oblast has no dependencies on gender and age and can be compared with reference intervals mentioned in instructions to reactive kits for detection of activity of AT III of firms producers Instrumentation Laboratory (USA) and Diagnostica Stago (France) in the reference literature. The reference intervals AT III mentioned in instructions to reactive kits produced by Instrumentation Laboratory (USA) and Diagnostica Stago (France) and in reference literature can be applied for interpretation of results of detection of activity of AT III by automated coagulometers "ACL 9000" (Instrumentation Laboratory, USA) and "STA Compact" (Diagnostica Stago, France) in adult population of the Astrakhanskaia oblast.

Key words: reference interval; antithrombin III; automated coagulometer "ACL 9000" (Instrumentation Laboratory, USA); automated coagulometer "STA Compact" (Diagnostica Stago, France); adult population; the Astrakhanskaia oblast

For citation: Petrova O.V., Urtaeva Z.A., Shashin S.A., Murygina O.I., Tarasov D.G. The reference intervals of antithrombin III in population of the Astrakhanskaia oblast at application of automated coagulometers. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2016; 61 (7): 429-432 (in Russ.)

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-7-429-432

For correspondence: Petrova O.V., candidate of medical sciences, head of clinical diagnostic laboratory. e-mail: asma@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Financing. The study had no sponsor support

Received 09.01.2016
Accepted 15.03.2016

Введение. Лечащий врач интерпретирует результат лабораторного исследования, сравнивая его с референсным интервалом (РИ). Использование РИ, указанных в инструкциях к реактивам и справочной литературе, в некоторых случаях может привести к неправильной интерпретации результатов лабораторного исследования. В связи с этим международные и отечественные сообщества по лабораторной диагностике рекомендуют региональным клиническим лабораториям самостоятельно определять РИ для каждого теста [1—3].

Известно, что нефракционированный гепарин (НФГ) и низкомолекулярный гепарин (НМГ) оказывают антикоагулянтный эффект в присутствии антитромбина III (АТ III). АТ III — гликопротеид, естественный антикоагулянт, синтезирующийся в печени и эндотелии сосудов, который ингибирует тромбин, факторы свертывающей системы (Ха, IXa, XIa, XIIa) и калликреин [4—8]. Для создания адекватной гипокоагуляции активность АТ III в плазме крови должна быть достаточной. Снижение активности АТ III в плазме крови приводит к развитию тромбоэмболических осложнений на фоне приема НФГ и НМГ [9—13].

Цель работы — установить РИ АТ III у взрослого населения Астраханской области на автоматических коагулометрах «ACL 9000» и «STA Compact» и сопоставить полученные результаты с данными фирм-производителей.

Материал и методы. Для установления РИ АТ III использовали классический подход с применением строгих критериев включения и исключения, расчет РИ [1, 14—17].

Обследование проводили в рамках профилактического медицинского осмотра в Федеральном центре сердечно-сосудистой хирургии (г. Астрахань). Все участники исследования дали свое информированное согласие.

Критерий включения в данное исследование — практически здоровые мужчины и женщины.

Критерий исключения — наличие соматической патологии: заболеваний сердечно-сосудистой системы, легких, почек, печени, желудочно-кишечного тракта.

Возраст большинства пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, поступающих на кардиохирургическое лечение, составляет от 40 до 60 лет. С учетом данного факта референсная группа была сформирована следующим образом: 120 здоровых мужчин и 120 здоровых женщин — жителей Астраханской области в возрасте от 40 до 60 лет.

Стандартизация преаналитического долабораторного этапа была обеспечена инструкциями для медицинского персонала:

- инструкция по подготовке пациентов к исследованию системы гемостаза;
- инструкция по правилам взятия крови для исследования системы гемостаза, хранения и транспортировки биологического материала.

Образцы крови для исследования собирали путем пункции кубитальной вены после наложения жгута (не более 1 мин) в положении пациента лежа с помощью двухкомпонентных систем для забора крови — одноразовых полипропиленовых пробирок с 3,2% цитратом натрия (фирмы Sarstedt, Германия).

Образцы крови доставляли в лабораторию в течение 15—20 мин после венепункции и анализировали в течение 30—35 мин с момента поступления.

Стандартизация преаналитического лабораторного этапа была обеспечена оценкой поступающего биологического материала в лабораторию (до центрифугирования на наличие сгустков и после центрифугирования — гемолиза) и пробоподготовкой (для получения плазмы пробирки с кровью центрифугировали 15 мин при 3000 оборотов в минуту).

При проведении исследования в каждом случае использовали первичную пробирку и систему автоматической подачи образцов.

Определение АТ III в плазме крови проводили хромогенным методом согласно инструкциям производителей на автоматических коагулометрах «ACL 9000» («Instrumentation Laboratory», США) и «STA Compact» («Diagnostica Stago», Франция).

Все статистические процедуры выполняли с помощью программного пакета Statistica 6.0 for Windows (StatSoft, Inc., США). Вычисляли \bar{X} (среднее арифметическое) и SD (стандартное отклонение). Проводили одномерный двухфакторный дисперсионный анализ, в котором пол и возраст выступали фиксированными факторами, а АТ III — зависимой переменной. Тип распределения определяли с помощью критерия Колмогорова—Смирнова. Для оценки различий в средних тенденциях между группами использовали критерий Манна—Уитни (U). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Для определения РИ использовали статистические подходы, рекомендованные Институтом клинических и лабораторных стандартов CLSI A28-3 [1].

На первом этапе исследования определяли и исключали из дальнейшего исследования статистические выбросы по АТ III.

Выбросы определяли с помощью метода Тьюки на основе интервала «нормальных» значений [1]:

$$[Q_1 - 1,5 \times IQR, Q_3 + 1,5 \times IQR],$$

где Q_1, Q_3 — границы первого и третьего квартилей, $IQR = Q_3 - Q_1$ — межквартильный размах. С помощью метода Тьюки из исследования исключили 5 результатов определения АТ III в плазме крови на «ACL 9000» (фирмы «Instrumentation Laboratory», США), что составило 2,08%, и 7 результатов определения АТ III на «STA Compact» («Diagnostica Stago», Франция), что составило 2,92%.

В доступной нам литературе мы не нашли данных о половых и возрастных различиях в активности АТ III у здорового населения, в связи с чем на втором этапе целесообразность выделения групп по полу и возрасту при расчете РИ определялась с помощью одномерного двухфакторного дисперсионного анализа.

Результаты одномерного двухфакторного дисперсионно-

Таблица 1

Результаты одномерного двухфакторного дисперсионного анализа целесообразности выделения групп по полу при расчете референсных интервалов активности антитромбина III (%)

Пол	Активность антиромбина III ($\bar{X} \pm SD$)	
	«ACL 9000»	«STA Compact»
Мужчины	99,45 ± 9,81 ($n = 117$)	99,98 ± 10,05 ($n = 117$)
Женщины	97,43 ± 10,63 ($n = 118$)	98,84 ± 9,96 ($n = 116$)

Таблица 2

Результаты одномерного двухфакторного дисперсионного анализа целесообразности выделения групп по возрасту при расчете референсных интервалов активности антитромбина III (%)

Возраст	Активность АТ III (X±SD)			
	«ACL 9000»		«STA Compact»	
	Мужчины	Женщины	Мужчины	Женщины
40—50 лет	99,02 ± 8,86 (n = 58)	99,33 ± 13,28 (n = 59)	102,5 ± 11,10 (n = 58)	100,92 ± 11,46 (n = 58)
51—60 лет	98,65 ± 10,53 (n = 59)	97,87 ± 10,48 (n = 59)	99,10 ± 9,69 (n = 59)	98,57 ± 9,55 (n = 58)

го анализа целесообразности выделения групп по полу и возрасту при расчете РИ АТ III представлены в табл. 1 и 2.

Достоверных различий между средними значениями активности АТ III у мужчин и женщин на автоматическом коагулометре «ACL 9000» не выявлено ($p > 0,05$). Аналогичные результаты получены при анализе активности АТ III у мужчин и женщин на автоматическом коагулометре «STA Compact». Не выявлено статистических достоверных различий ($p > 0,05$) между средними значениями АТ III на «ACL 9000» и «STA Compact» у мужчин и женщин (см. табл. 1).

Статистически достоверных различий в активности АТ III у мужчин и женщин в зависимости от возраста не выявлено (см. табл. 2).

Результаты одномерного двухфакторного дисперсионного анализа показали нецелесообразность деления взрослого населения Астраханской области по полу и возрасту при установлении РИ АТ III (см. табл. 1, 2).

В связи с отсутствием необходимости деления взрослого здорового населения Астраханской области по полу и возрасту для получения единых значений данные определения активности АТ III у мужчин и женщин объединили в одну группу.

С учетом того факта, что численность референсной группы (табл. 3) превышала 120 человек и распределение значений активности АТ III было «нормальным», РИ АТ III представлен в виде $X_{ср} \pm 1,96SD$, согласно которому у 95% здоровых лиц обнаруживаются «нормальные» лабораторные показатели и у 5% здоровых лиц — «ненормальные» [1, 14—17].

В табл. 3 представлены установленные нами $X_{ср}$, SD , РИ АТ III у взрослого населения Астраханской области.

Достоверных различий между средними значениями АТ III ($p > 0,05$), полученными на автоматических коагулометрах «ACL 9000» и «STA Compact», не выявлено.

РИ для АТ III, установленные нами на коагулометрах «ACL 9000» и «STA Compact», не отличались друг от друга.

РИ АТ III, полученные нами на коагулометрах «ACL 9000» и «STA Compact», не отличаются от РИ, указанных в инструкциях к наборам реактивов для определения АТ III на автоматических коагулометрах «ACL 9000» и «STA Compact» (см. табл. 3).

Кроме того, РИ АТ III, установленный нами на коагулометрах «ACL 9000» («Instrumentation Laboratory», США) и «STA Compact» («Diagnostica Stago», Франция), совпадает с

данными, указанными в справочной литературе [18—20].

Обсуждение. На основании полученных результатов исследования можно сделать следующие выводы.

1. РИ АТ III у взрослого населения Астраханской области не зависит от пола и возраста.

2. Значения РИ АТ III у взрослого населения Астраханской области, установленные нами на автоматических коагулометрах «ACL 9000» («Instrumentation Laboratory», США) и «STA Compact» («Diagnostica Stago», Франция), не отличались друг от друга.

3. Значения РИ АТ III у взрослого населения Астраханской области, полученные нами на автоматических коагулометрах «ACL 9000» и «STA Compact», сопоставимы с РИ, которые указаны в инструкциях к наборам реактивов для определения активности АТ III фирм-производителей «Instrumentation Laboratory» (США) и «Diagnostica Stago» (Франция) и в справочной литературе.

4. РИ АТ III, указанные в инструкциях к наборам реактивов фирм-производителей «Instrumentation Laboratory» (США) и «Diagnostica Stago» (Франция) и в справочной литературе, могут быть использованы для интерпретации результатов определения активности АТ III на автоматических коагулометрах «ACL 9000» («Instrumentation Laboratory», США) и «STA Compact» («Diagnostica Stago», Франция) у взрослого населения Астраханской области.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 7—17 см. REFERENCES)

- Петрова О.В., Гордеева О.Б., Шашин С.А., Тарасов Д.Г. Референсные значения активированного времени свертывания крови и фибриногена у детей Астраханской области. *Астраханский медицинский журнал*. 2013; 8(4): 122—5.
- Петрова О.В., Гордеева О.Б., Шашин С.А., Тарасов Д.Г. Референсные значения протромбинового времени, активированного частичного тромбопластинового времени и фибриногена у детей Астраханской области. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2014; (3): 50—2.
- Баркаган З.С., Момот А.П. *Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза*. М.: Ньюдиамед; 2008.
- Дементьева И.И., Чарная М.А., Мороз Ю.А. *Система гемостаза при операциях на сердце и магистральных сосудах*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009.
- Вавилова Т.В. *Гемостазиология в клинической практике: пособие для врачей*. СПб.: Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова; 2005.
- Долгов В.В., Свиринов В.П. *Лабораторная диагностика нарушений гемостаза*. Тверь: Триада; 2005.
- Кишкун А.А. *Руководство по лабораторным методам диагностики*. М.: ГЭОТАР—Медиа; 2007.
- Алан Г.Б. *Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам*. М.: Лабора; 2013.

Поступила 09.01.16

REFERENCES

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory, Approved Guideline. 3rd ed. CLSI document. 2008: 28—33.
- Petrova O.V., Gordeeva O.B., Shashin S.A., Tarasov D.G. The reference values of the activated clotting time and fibrinogen in children Astrakhan region. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; 8(4): 122—5. (in Russian)
- Petrova O.V., Gordeeva O.B., Shashin S.A., Tarasov D.G. The reference values of prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and fibrinogen in children Astrakhan region. *Tromboz, gemostaz i reologiya*. 2014; (3): 50—2. (in Russian)
- Barkagan Z.S., Momot A.P. *Diagnosics and Controlled Therapy of Violations of a Hemostasis [Diagnostika i kontroliruemaya terapiya narusheniy gemostaza]*. Moscow: N'yudiamed; 2008. (in Russian)

Таблица 3

Референсные интервалы активности антитромбина АТ III (%)

Автоматические коагулометры	$X_{ср}$	SD	Референсный интервал ($X_{ср} \pm 1,96SD$)
«ACL 9000»	98,98	10,40	82,45—118,53 (n = 235)
«STA Compact»	99,60	10,00	81,5—119 (n = 233)

5. Dement'eva I.I., Charnaya M.A., Moroz Yu.A. *Haemostasis System at Heart Operations and the Main Vessels [Sistema gemostaza pri operatsiyakh na serdtshe i magistral'nykh sosudakh]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. (in Russian)
6. Vavilova T.V. *Haemostasiologiya in Clinical Practice: a Grant for Doctors [Gemostaziologiya v klinicheskoy praktike: posobie dlya vrachey]*. St. Petersburg: Sankt-Peterburgskiy gosudarstvennyy meditsinskiy universitet imeni akademika I.P. Pavlova; 2005. (in Russian)
7. Toh C.H., Hoots W.K.; SSC on Disseminated Intravascular Coagulation of the ISTH. The scoring system of the Scientific and Standardization Committee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: a 5-year overview. *J. Thromb. Haemost.* 2007; 5(3): 604—6.
8. Warkentin T.E., Maurer B.T., Aster R.H. Heparin-induced thrombocytopenia associated with fondaparinux. *N. Engl. J. Med.* 2007; 356(25): 2653—4
9. Levi M. Disseminated intravascular coagulation. *Crit. Care Med.* 2007; 35(9): 2191—5.
10. Linkins L.A., Dans A.L., Moores L.K., Bona R., Davidson B.L., Schulman S. et al. Treatment and Prevention Heparin-Induced Thrombocytopenia. Antithrombotic Therapy and prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2012; 141(Suppl.2): 495—50.
11. Lobo B., Finch C., Howard A., Minhas S. Fondaparinux for the treatment of patients with acute heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb. Haemost.* 2008; 99(1): 208—14.
12. Rota E., Bazzan M., Fantino G. Fondaparinux-related thrombocytopenia in a previous low-molecular-weight heparin (LMWH)-induced heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Thromb. Haemost.* 2008; 99(4): 779—81.
13. Summerhayes R.G., Newall F., Monagle P., Ignjatovic V. An automated anti- IIa assay to measure UFH levels in plasma — a method without exogenous antithrombin. *Int. J. Lab. Haematol.* 2010; 32(20): 268—70.
14. Katayev A., Balciza C., Seccombe D.W. Establishing reference intervals for clinical laboratory test results: is there a better way? *Am. J. Clin. Pathol.* 2010; 133: 180—6.
15. Horowitz G.L. Estimating reference intervals. *Am. J. Clin. Pathol.* 2010; 133(2): 175—7.
16. Bertholf R.L. Statistical methods for establishing and validating reference intervals. *Lab. Med.* 2006; 37(5): 306—10.
17. Bolann B.J. Easy verification of clinical chemistry reference intervals. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 51(11): e279—81.
18. Dolgov V.V., Svirin V.P. *Laboratory Diagnostics of Violations of an Haemostasis [Laboratornaya diagnostika narusheniy gemostaza]*. Tver': Triada; 2005. (in Russian)
19. Kishkun A.A. *Guide to Laboratory Methods of Diagnostics [Rukovodstvo po laboratornym metodam diagnostiki]*. Moscow: GEOTAR—Media; 2007. (in Russian)
20. Alan G.B. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Test [Klinicheskoe rukovodstvo Titsa po laboratornym testam]*. Moscow: Labora; 2013. (in Russian)

Received 09.01.16

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 578.832.1.083.3

Петрова Е.Р., Кривицкая В.З., Сорокин Е.В., Царева Т.Р., Майорова В.Г., Тимошичева Т.А., Сомнина А.А.

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАНДЕМИЧЕСКИХ ВИРУСОВ ГРИППА СУБТИПОВ А(Н2), А(Н5), А(Н7) И А(Н9)

ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» Минздрава Российской Федерации, 197376, Санкт-Петербург

Цель работы: разработка диагностических тест-систем, сконструированных по принципу «сэндвич» ИФА, для детекции антигенов вирусов гриппа, обладающих пандемическим потенциалом: А(Н2), А(Н5), А(Н7) и А(Н9).

Получены и охарактеризованы панели субтипоспецифичных моноклональных антител (МКА), взаимодействующих с молекулой гемагглютинина потенциально пандемических вирусов гриппа. Для вирусов каждого субтипа были подобраны пары МКА/конъюгат МКА с пероксидазой хрена, наиболее эффективно взаимодействующие с вирусом-иммуногеном и не обладающие неспецифической активностью по отношению к вирусам гриппа гетерологичных субтипов. С учетом установленных пороговых значений чувствительность тест-систем варьировала в зависимости от субтипа и штамма вирусов в пределах 4—30 нг/мл при оценке вирусных очищенных концентратов и 0,3—8 гемагглютинирующих единиц при анализе вирусосодержащей аллантоисной жидкости. Специфичность ИФТС проявилась в отсутствии неспецифических взаимодействий с гетерологичными вирусами, как сезонными, так и потенциально пандемическими.

Метод может быть использован для быстрой идентификации вирусов гриппа, нетипируемых при рутинной работе практических лабораторий.

Ключевые слова: иммуноферментные тест-системы; детекция антигенов; потенциально пандемические вирусы гриппа А(Н2), А(Н5), А(Н7), А(Н9); субтипоспецифичные моноклональные антитела.

Для цитирования: Петрова Е.Р., Кривицкая В.З., Сорокин Е.В., Царева Т.Р., Майорова В.Г., Тимошичева Т.А., Сомнина А.А. Разработка иммуноферментных тест-систем для детекции потенциально пандемических вирусов гриппа субтипов А(Н2), А(Н5), А(Н7) и А(Н9). *Клиническая лабораторная диагностика.* 2016; 61 (7): 432-438. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-7-432-438

Для корреспонденции: Кривицкая Вера Зорьевна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава Российской Федерации, 197376, Санкт-Петербург; e-mail: vera.kriv@influenza.spb.ru