



ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к предварительному патенту Кыргызской Республики

(21) 960523.1

(22) 03.09.1996

(46) 30.06.1998, Бюл. №2, 1998

(71) Национальный центр кардиологии и терапии при Министерстве здравоохранения Кыргызской Республики (KG)

(72) Китаев М.И., Миррахимов М.М., Гринштейн И.А., Кудайбердиев З.М. (KG)

(73) Китаев М.И. (KG)

(56) Цыбиков Н.Н., Материалы по взаимосвязи иммуногенеза и гемостаза в эксперименте.
- Дис. д.м.н. - Чита, 1983

(54) Способ диагностики тромбинемии

(57) Изобретение относится к практической иммунологии и предназначено для диагностики тромбоэмбологических патологий. Преимуществом способа является его более высокая точность, широкие функциональные возможности и доступность. Способ позволяет выявить тромбоэмбологические патологии на доклинической стадии. Сущность способа состоит в выделении из периферической крови лейковзвеси, определении в ней сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов. При этом по наличию более трех парных лимфоцитарных агглютинатов на каждые 200 свободнолежащих лимфоцитов диагностируют клинически выраженные или латентно протекающие тромбинемии, а при показателе "три" и ниже - их отсутствие. 2 пр., 2 табл.

Изобретение относится к медицине, в частности, к иммунологии, и может быть использовано для дополнительной диагностики тромбоэмбологических патологий с клинической манифестацией или без таковой, т.е. на доклинических стадиях.

Известен способ, заключающийся в динамическом определении титра аутоантител к тромбину и рекомендован для ретроспективной диагностики тромбинемии /гиперкоагуляции, ДВС-синдрома/. Повышение титра аутоантител к тромбину выше 1/64 является дифференциально-диагностическим тестом острого инфаркта миокарда, а снижение титра аутоантител к тромбину в плазме свидетельствует об остропротекающем ДВС-синдроме.

Способ по прототипу дает возможность лишь для ретроспективной диагностики тромбинемии /гиперкоагуляции, ДВС-синдрома/.

Поскольку способ основан на определении титра циркулирующих в крови антител к тромбину, способных нейтрализовать ферментативную активность поступающего в

кровоток активного энзима, то при развитии тромбоэмболии титр антител к тромбину снижается и может достигать уровня практически здоровых людей, что аннулирует его диагностическую ценность в особо опасных для жизни ситуациях. Кроме того, для осуществления способа необходима многократная постановка реакции определения антител, т.к. диагноз ставят на основании положительной или отрицательной динамики показателя. В своей основе способ предполагает многократное исследование титра антител в динамике, что делает его непригодным для охвата большого количества обследуемых с целью выявления контингента «Угрожаемого» на развитие тромбоэмбологических патологий (лиц, у которых тромбинемии со стервой клинической картиной имеются на момент обследования или имели место в прошлом).

Задача изобретения - повышение точности диагностики и расширение ее функциональных возможностей при сокращении времени исследования.

Сущность способа состоит в том, что из периферической крови выделяют лейко-взвесь, идентифицируют в ней сенсибилизованные к тромбину лимфоциты и при наличии более трех парных лимфоцитарных агглютининов на каждые 200 свободнолежащих лимфоцитов диагностируют клинически выраженные или латентно протекающие тромбоэмбологические патологии, а при показателе "3" и ниже - их отсутствие.

Сравнительный анализ изобретенного способа и способа по прототипу.

1. Предназначение способов

Способ по прототипу	Изобретенный способ
Судя по источнику, способ рекомендован для ретроспективной диагностики тромбинемии.	Способ предназначен для диагностики тромбинемии.

Предназначение изобретенного способа гораздо шире, чем у прототипа, т.к. он может быть использован в следующих случаях: а) ретроспективная диагностика перенесенного тромбоза, б) диагностика тромбоэмболии, имеющейся на момент обследования, в) выявление лиц с латентно протекающей тромбинемией (на доклинических стадиях патологического процесса).

II. Диагностический ориентир

Прототип	Изобретенный способ
Ориентируется на положительную или отрицательную динамику титра антител к тромбину.	Ориентируется на количество сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов на момент обследования больного.

Изобретенный – диагностический ориентир позволил расширить спектр функциональных возможностей изобретенного способа.

При превращении протромбина в тромбин обнажаются ранее скрытые антигенные детерминанты, позволяющие организму расценивать тромбин как чужеродное вещество, что подтверждается возможностью иммунохимической дифференциации протромбина от тромбина (M.C. Dibble et. al., 1981). При полноценном функционировании противосвертывающий системы в кровотоке могут появляться лишь следы тромбина, которые быстро нейтрализуются. При неполноценном функционировании противосвертывающей системы тромбин получает возможность циркулировать в крови в течение более продолжительного времени, достаточного для сенсибилизации к нему лимфоцитов. Наличие в крови тромбина чревато для организма развитием тромбоэмболии различной локализации или ДВС-синдрома. Лимфоциты, несущие на своей поверхности рецепторы к тромбину, осуществляют, в отличие от антител к нему, не эфферентную, а афферентную функцию

иммунной регуляции гемостаза (Цыбиков Н.Н., Кузник Б.И., 1986), т.е. они участвуют в "узнавании" фермента, но не используются на его нейтрализацию, поэтому их уровень гораздо более стабилен и демонстративен, чем титр антител, а при возникновении повторных тромбозов количество сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов не уменьшается, как это имеет место с антителами, а возрастает. Согласно наблюдениям, пул сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов сохраняется после перенесенного тромбоза около 1.5 месяца и уменьшается в случае ликвидации факторов, нарушивших равновесие в системе гемостаза. Это важно для выявления лиц с латентно протекающей тромбинемией при отсутствии ее клинической манифестации.

В способе по прототипу ориентируются на динамику титра антител специфических антагонистов ферментативной активности тромбина. Их предназначение - немедленная нейтрализация фермента в случае назревающей или свершившейся в организме тромбоэмболитической катастрофы. При таких ситуациях в циркуляции остаются низкоаффинные антитела, не связавшиеся с ферментом, либо их излишек, оставшийся после образования комплекса антиген-антитело. В любом из этих случаев уровень антител в циркуляторном русле не отражает действительной картины присутствия антител в организме.

Вот почему титр антител, определяемый в плазме больного, не дает уверенности в благополучном состоянии коагуляционного потенциала обследуемого, и диагностические функции способа-прототипа могут оказаться нулевым на пике тромбообразования.

Мы определяли титр антител к тромбину по прототипу для диагностики тромбинемии при обследовании пятидесяти больных с острым крупноочаговым инфарктом миокарда. При применении этого метода на практике выявлены недостатки, обусловленные выбором диагностического ориентира, значительно ограничивающего диагностические возможности способа прототипа.

У здоровых доноров (30 чел.) показатель титра антител не превышал 1/32. У больных острым крупноочаговым инфарктом миокарда, обследованных в динамике, титр антител к тромбину достигал диагностического уровня 1/64 на первый-третий день болезни лишь в 32.5 % случаев, на 7-10 сутки - в 40 % случаев, на 14-17 - в 60 % и на 21-24 - у 73 % всех больных.

Очевидно, уровень антител достигает высоких титров тогда, когда количество циркулирующего тромбина значительно уменьшается, в противном случае антитела используются для нейтрализации тромбина. Титр антител к тромбину у больных, скончавшихся в стационаре от тромбоэмбологических осложнений, в большинстве случаев так и не достиг диагностического уровня, хотя тромбоэмбологические эпизоды были патологоанатомически подтверждены. Естественно, что в подобной ситуации уровень определяемых антител далек от их действительного присутствия в организме.

Отличие изобретенного способа в количественной разнице иммунологического обследования больного для постановки диагноза, что также отражается на функциональных возможностях способа. В прототипе - многократное обследование больного для выявления характера динамики титра антител, практически возможно лишь в условиях стационара. В изобретенном способе достаточно однократно определить уровень сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов, чтобы оценить состояние больного. Это дает основание для его широкого использования. Учитывая аргументацию второго отличия, титр антител менее 1/64 не дает уверенности в благополучном состоянии коагуляционного потенциала обследуемого. Лишь резкое снижение титра антител на фоне динамического наблюдения за ним может сигнализировать о тромбинемии. Функциональные возможности способа-прототипа ограничивают его диагностическую ценность очень узкими рамками, предлагающими динамику наблюдения, основанную на многократном проведении трудоемкой методики.

III. Характеристика используемых методик для выведения диагностического критерия.

Прототип	Изобретенный способ
<p>Титр антител к тромбину определяют по Boyden (1951)</p> <p>3.1. Забор крови на 3.8 % цитрате или ЭДТА.</p> <p>3.1.2. Получение плазмы путем центрифугирования.</p> <p>3.1.3. Инактивация плазмы при 56° в течение 30 мин.</p> <p>3.1.4. Для предупреждения неспецифической агглютинации плазму дважды адсорбируют эритроцитами барана (50 мин).</p> <p>3.1.5. Путем титрования готовят в компараторе ряд последовательно убывающих разведений исследуемой плазмы.</p> <p>3.2. Приготовление нормальной кроличьей сыворотки к реакции:</p> <p>3.2.1. Инактивация на водяной бане при 58° в течение 30 мин.</p> <p>3.2.2. Дважды адсорбируют бараньими эритроцитами.</p> <p>3.2.3. Готовят разведение кроличьей сыворотки 1:100 и заливают в лунки компаратора.</p> <p>3.3. Сенсибилизации бараньих эритроцитов тромбином:</p> <p>3.3.1. Эритроциты трижды отмывают физиологическим раствором (15 мин).</p> <p>3.3.2. Готовят 5 % взвесь.</p>	<p>Циркулирующие антигенсвязывающие лимфоциты, сенсибилизированные к тромбину, выявляют по Р.М. Хайтову и Ф.Ю. Гарибу (1973).</p> <p>3.1. Забор крови (на гепарине).</p> <p>3.1.2. Получение лейковзвеси путем отмывания плазмы с лейкоцитами средой 199.</p> <p>3.1.3. Доведение количества лейкоцитов до 2×10^6 при помощи среды 199.</p> <p>3.1.4. Контроль равен 0.1 мл лейковзвеси +0.1 мл среды 199. Опыт равен 0.1 мл лейковзвеси +0.1 мл антигена. Содержимое пробирок в опыте и в контроле перемешивают, оставляют при 37° на 15 мин, затем дважды отмывают средой 199.</p> <p>3.1.5. В контрольную и опытную пробирки добавляют по 0.1 мл лейковзвеси, не реагировавшей с антигеном, оставляют при 37° на 30 мин.</p> <p>3.1.6. Из осадков делают мазки, которые фиксируют и красят по Романовскому.</p> <p>3.1.7. Считают под иммерсией количество парных агглютинатов на 200 свободнолежащих лимфоцитов в опыте и в контроле (неспецифическая агглютинация). Результат получают, вычитая из данных опыта данные контроля</p>

3.3.3. Инкубируют взвесь с 0.25 % глютаровым альдегидом при 37° 15 мин. Затем трижды отмывают физиологическим раствором (20 мин).

3.3.4. Инкубируют эритроциты с тромбином при 37° 60 мин.

3.3.5. Трижды отмывают физиологическим раствором (20 мин).

3.3.6. Для блокирования свободных групп глютарового альдегида 20 минут инкубируют лейко-взвесь с равным объемом 1 % глицина.

3.3.7. Трижды отмывают физиологическим раствором.

3.3.8. В лунки компаратора с исследуемой плазмой добавляют по 0.1 мл 2.5 % взвеси эритроцитов барана, сенсибилизованных тром-3.3.9. Перемешивают содержимое лунок и инкубируют 120 мин в термостате, а затем 18-20 ч - при 4°C.

3.4. Чтение результатов: Сенсибилизованные эритроциты при взаимодействии со специфическими антителами дают макроскопически видимую агглютинацию эритроцитов. Резко выраженную агглютинацию эритроцитов обозначают +++, менее выраженную - +++ или ++. Оседание эритроцитов в виде небольшого кружева по краям с компактным скоплением эритроцитов в центре обозначают одним крестом (+). Оседание эритроцитов в виде компактной массы с резко очерченными краями оценивают как отрицательную гемагглютинацию и обозначают

Из приведенного выше метода определения антител видно, что он достаточно громоздок, но даже если допустить возможность того, что в будущем станут доступным более совершенные методы (например, иммуноферментный или радиоиммунный), снизится лишь порог чувствительности метода, но сохранятся недостатки способа-прототипа, исходящие из предназначения самих антител для нейтрализации ферментивной активности тромбина.

IV. Выведение диагностического критерия.

Прототип	Изобретенный способ
----------	---------------------

<p>У практически здоровых доноров без тромбоопасных ситуаций титр антител к тромбину при динамическом наблюдении не превышает 1/32. Однако, однократное обнаружение у обследуемого титра антител, допустим, 1/16 еще не исключает у него тромбинемии; это состояние вполне может иметь место и лишь повторные исследования при отсутствии динамики показателей свидетельствуют о верности полученных результатов. Если при наблюдении вышеуказанных условий титр антител к тромбину не превышает 1/32, то это говорит об отсутствии у больного тромбинемии, если же титр антител превышает 1/64, он является дополнительным диагностическим критерием острого коронарного тромбоза.</p>	<p>У здоровых людей с полноценной функционирующей противосвертывающей системой количество лимфоцитов, несущих на своей поверхности рецепторы к тромбину, не превышает трех парных лимфоцитарных агглютинатов на каждые 200 свободнолежащих лимфоцитов. После имевшей место тромботической ситуации показатель сохраняется довольно стабильно примерно 1.5 месяца, поэтому достаточно однократного его определения для фиксации факта тромбинемии.</p>
---	---

В способе-прототипе на выведение диагностического критерия при двух-трехкратном обращении к методике определения титра антител к тромбину требуется 48-72 ч лабораторного времени, тогда как на выведение диагностического критерия в изобретенном способе необходимо 3 ч, что экономит время, по меньшей мере, в 16-25 раз.

Для обоснования возможности применения изобретенного способа с диагностической целью обследовано 70 человек, 20 - практически здоровые доноры станции переливания крови составили группу контроля, 50 - больные с тромбоэмбологическими патологиями, находящиеся на стационарном лечении в Кыргызском НИИ кардиологии (диагнозы выставлены на основании клинических и лабораторно-инструментальных исследований; у всех больных, скончавшихся в стационаре, тромбоэмбологические эпизоды патолого-анатомически подтверждены). В таблицах 1, 2 приведены результаты исследований.

Из таблицы 1 видно, что среднее количество парных лимфоцитарных агглютинатов на 200 лимфоцитов у практически здоровых доноров не превышает 1.05 ± 0.37 , при доверительных границах от 0.66 до 1.44. Индивидуальные значения этого показателя колеблются у отдельных доноров от 0 до 3.

В изобретенном способе диагностики тромбинемий пороговой величиной диагностического критерия является показатель, превышающий максимально возможный уровень сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов у здоровых людей, т.е. более трех парных лимфоцитарных агглютинатов на 200 свободнолежащих лимфоцитов.

У 86 % обследованных нами больных уровень определяемого показателя превышал диагностическую величину уже в 1-3 сутки заболевания, среднее его значение составило 6.52 ± 0.28 , а доверительные границы - от 5.66 до 7.38 (см. таблицу 2). Максимальное выявление тромбинемий (92 % наблюдений) достигнуто к 7-10 суткам.

Точность диагностики по прототипу сводится к нулевому результату, если речь идет о прогнозировании возможных тромбоэмбологических явлений при отсутствии внешней клиники заболевания, в то время как изобретенный способ предусматривает такую возможность.

Пример 1 иллюстрирует использование данного способа для подтверждения тромбоза коронарной артерии непосредственно после его развития, а также для прогнозирования и диагностики осложнений (рецидивирование инфаркта миокарда).

Больная В.А., 57 лет, (№ ИБ 933300/640/1114), поступила в отделение реанимации и интенсивной терапии Кыргызского НИИ кардиологии с жалобами на жгучие боли в нижней трети грудины, иррадирующие в левую руку, продолжающиеся более 3-х ч, которые не снимаются нитроглицерином. Объективно состояние средней тяжести: бледность кожных покровов, акроцианоз губ, кончиков пальцев. Тоны сердца глухие, ритм правиль-

ный, ЧСС - 78, АД-150/90; на ЭКГ-трансмуральное повреждение перегородочной области и верхушки миокарда; из анализа крови: Л-10.9 тыс., СОЭ-13 мм/час; КФК-0.53. Количество сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов в первые сутки от начала болевого приступа составляет 8 парных агглютинатов на 200 лимфоцитов. Через 6 дней на фоне проводимой терапии состояние больной стабилизировалось; приступы загрудинных болей прекратились; из анализа крови: Л-8.8 тыс., СОЭ-20 мм/час., ЭКГ без отрицательной динамики. Уровень тромбинсвязывающих лимфоцитов остается равным 8. Спустя 13 дней от начала болевого приступа клиническое состояние больной не вызывает опасений; ЭКГ без отрицательной динамики; из анализа крови Л-10.9 тыс., СОЭ-31 мм/час. Очередное определение тромбинсвязывающих лимфоцитов зарегистрировало увеличение их количества до 10. Через 15 дней пребывания в стационаре состояние больной ухудшилось, развивались признаки застоя в малом кругу кровообращения, возобновились загрудинные боли, проводимая интенсивная терапия не дала эффекта и больная скончалась в течение суток. Диагноз: "Рецидивирующий трансмуральный инфаркт перегородочной области и верхушки миокарда. Острая аневризма сердца. Тампонада сердца". Диагноз подтвержден патологоанатомически.

Пример 2 иллюстрирует возможность использования изобретенного способа с целью диагностики тромбинемий на доклинической стадии развития тромбоэмбологических патологий.

Больной Т.Н.А., 50 лет, (№ ИБ 3852/950), поступил в отделение хронической ишемической болезни сердца Кыргызского НИИ кардиологии с жалобами на боли в пре-кардиальной области при физической нагрузке и нервно-эмоциональном напряжении, делящиеся 5-7 мин, которые снимаются нитроглицерином. После лабораторно-инструментального обследования выставлен диагноз: хроническая ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения II функционального класса. На фоне лечения приступы боли стали менее частыми и продолжительными.

Содержание сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов на 3-й день пребывания больного в стационаре составило 2, что практически не превышало величин, свойственных здоровому донору.

Через 22 дня после поступления в стационар состояние больного ухудшилось: участились приступы загрудинных болей, иногда они стали возникать в покое. На ЭКГ динамики не выявлялось. Уровень сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов был равен 2.

Через 38 дней нахождения больного в стационаре количество сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов возросло до 6; хотя клиническая картина не претерпела существенных изменений. Спустя 2 дня после этого у больного развился острый передне-перегородочный инфаркт миокарда с соответствующими изменениями на ЭКГ; КФК возросла до 1.9. Таким образом, увеличение тромбинсвязывающих лимфоцитов предшествовало развитию клинической картины инфаркта миокарда.

Из проведенных исследований видно, что способ может обеспечить иммунологическую диагностику тромбоопасных состояний на доклинических стадиях развития, что важно для своевременного предупреждения их клинических последствий.

При отсутствии патологий (контрольная группа - практически здоровые лица) показатель уровня сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов составляет "3" и ниже.

Определение уровня сенсибилизованных к тромбину лимфоцитов может служить дополнительным диагностическим критерием тромбинемии.

Для выполнения способа не требуется использование дорогостоящих дефицитных реактивов и оборудования, поэтому он доступен лечебным учреждениям широкого профиля.

Таблица 1

Содержание тромбинсвязывающих лимфоцитов в крови практически здоровых людей

№№	Фамилии	Количество парных агглютинатов на 200 свободнолежащих лимфоцитов
1.	Черноиванов	1
2.	Чечерин	0
3.	Гармаш	0
4.	Горборуков	1
5.	Черкасский	1
6.	Николенко	1
7.	Бейц	0
8.	Троицкий	2
9.	Котенко	2
10.	Попов	1
11.	Медведев	1
12.	Неверов	2
13.	Четвергов	2
14.	Зайка	0
15.	Галлиев	3
16.	Костылев	2
17.	Бовний	0
18.	Лайрих	3
19.	Шашура	1
20.	Несмиянов	0

$$\begin{array}{cc} M & 1.05 \\ m & \pm 0.37 \end{array}$$

Доверительные границы 0.66-1.44

Таблица 2

Содержание тромбинсвязывающих лимфоцитов в крови больных с тромбоэмбологическими патологиями

№ № пп	Фамилии	Диагноз	количество парных лифоцитарных агглютинатов на 200 лимфоцитов по дням болезни			
			1-3	7-10	14-17	21-24
1	2	3	4	5	6	7
1	Дутова	Крупноочаговый инфаркт миокарда	6	6	8	16
2	Ломоносова	То же	10	12	8	8
3	Чеулаев	-II-	6	8	8	6
4	Именов /exitus/	Расслаивающая аневризма аорты, тампонада сердца	10	-	-	-
5	Сорокин	Крупноочаговый инфаркт миокарда	12	8	6	8
6	Глебов	То же	6	4	6	10
7	Иванкин	-II-	12	18	14	-
8	Ефимова	-II-	10	14	16	10
9	Шереметьев	-II-	4	6	4	-

10	Казнировская /exitus/	Тромбоз вен нижних конеч- ностей, тромбоэмболия легочной артерии	12	-	-	-	-
11	Шураев	Крупноочаговый инфаркт миокарда	4	12	8	10	
12	Байматов /exitus/	Тоже	8	~	-	-	
13	Жилов	-II-	12	10	6	2	
14	Соцкин	-II-	16	14	-	-	
15	Письменский	-II-	8	6	4	6	
16	Рубель	Тромбоэмболия легоной артерии	9	10	-	-	
17	Хилимончик	Крупноочаговый инфаркт миокарда	8	6	4	-	
18	Гольдберг	Тоже	6	-	6	5	
19	Бобров	-II-	4	8	6	-	
20	Анохин /exitus/	-II-	5	-	-	-	
21	Венцель /exitus/	-II-	8	8	10	-	
22	Жеребчиков	-II-	6	4	4	5	
23	Морозов	-II-	2	3	3	2	
24	Зубков	-II-	6	4	10	-	
25	Прижигальский	-II-	3	4	-	-	
26	Галимов	-II-	8	8	6	6	
27	Гирш	Крупноочаговый инфаркт миокарда	3	10	8	8	
28	Кураков	То же	3	6	8	6	
29	Салимов /exitus/	-II-	6	-	-	-	
30	Рыжак	-II-	6	8	8	6	
31	Селиверстов	-II-	4	6	4	-	
32	Колосов	Мелкоочаговый инфаркт миокарда	2	2	2	2	
33	Боганина /exitus/	Крупноочаговый инфаркт миокарда	8	-	-	-	
34	Латышова /exitus/	То же	12	-	-	-	
35	Суслов	-II-	6	10	8	8	
36	Козловская	-II-	6	8	-	7	
37	Баев	Острый инфаркт миокарда с рецидивировавшим	5	7	7	6	
38	Хазиев	То же	4	4	8	10	
39	Садыков	Крупноочаговый инфаркт миокарда	2	3	5	4	
40	Мордвинов	То же	6	7	7	8	
41	Благов	-II-	5	8	8	6	
42	Грибцов	-II-	4	6	5	5	
43	Маланичев	-II-	6	6	5	6	
44	Муминов	-II-	2	3	3	3	

45	Киясов	-II-	5	4	5	4
46	Вырыпаев	-II-	6	5	6	6
47	Барышникова /exitus/	-II-	8	-	-	-
48	Нургалиева	-II-	5	6	-	-
49	Захарин	-II-	7	6	7	-
50	Неметулаев	-II-	4	6	-	-
M			6.25	7.56	6.69	7.00
$\pm m$			± 0.28	± 0.33	± 0.28	± 0.35
Доверительный интервал			5.66- 7.38	6.36- 8.76	5.59- 7.79	5.57- 8.49

Формула изобретения

Способ диагностики тромбинемии, заключающийся в исследовании иммунных реакций крови к тромбину *in vitro*, отличающийся тем, что из периферической крови выделяют лейковзвесь, идентифицируют в ней сенсибилизированные к тромбину лимфоциты и при наличии более трех парных лимфоцитарных агглютинатов на каждые 200 свободнолежащих лимфоцитов диагностируют клинически выраженные или латентно протекающие тромбинемии, а при показателе "3" и ниже - их отсутствие.

Составитель описания
Ответственный за выпуск

Кожомкулова Г.А.
Арипов С.К.

Кыргызпатент, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41; факс: (312) 68 17 03