

# ИНСТРУКЦИЯ

## по применению набора реагентов для определения протромбинового времени в капиллярной крови

# Техпластин-тест (К)

### НАЗНАЧЕНИЕ

Техпластин-тест (К) предназначен для оценки протромбинового времени свертывания в капиллярной крови. Измерение желательно проводить на коагулометре с механическим принципом регистрации результатов (например, коагулометре серии "Тромбостат" фирмы Behnk Elektronik, "КС" фирмы "Amelung" и др.). Определение протромбинового времени используется для тестирования факторов протромбинового комплекса (II - протромбина, V, VII, X) и контроля за лечением антикоагулянтами непрямого действия.

### ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

**Принцип метода.** Тромбопластин (фактор III, тромбокиназа) превращает протромбин крови в присутствии ионов кальция в активный фермент тромбин, трансформирующий фибриноген крови в нерастворимый фибрин. Измеряется протромбиновое время - время образования фибрина в капиллярной крови в присутствии ионов кальция и тканевого тромбопластина (растворимого экстракта из мозга человека).

#### Состав набора.

1. *Техпластин (К)* - лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь, на 5,0 мл суспензии (25 дублированных определений) - 2 фл.

**Международный индекс чувствительности (МИЧ) Техпластина (К) в разных сериях составляет 1.1 или 1.2<sup>1</sup>.**

2. *Растворитель для Техпластина (К)*, 10,5 мл - 1 фл.

3. *Контрольная плазма* - лиофильно высушенный пул плазмы крови не менее, чем от 20 здоровых людей, на 0,4 мл - 1 фл.

4. *Цитрат натрия* (3-х замещенный) - на 10 мл 3,8% раствора - 1 фл.

Реагенты проверены на содержание вирусов гепатита и ВИЧ.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность определения протромбинового времени - в диапазоне от 11 до 90 с.

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени в капиллярной крови не превышает 10%. Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе крови разными наборами одной серии не превышает 10%.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

### ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- коагулометр, при отсутствии коагулометра - секундомер, термобаня на 37°C;

- капилляры Панченкова. *Данные капилляры не калиброваны по объему, но ими можно пользоваться для получения необходимого соотношения (9:1) крови с раствором цитрата натрия. При этом общий, маркированный рисками объем капилляра составляет, как правило, от 110 до 150 мкл (или 0,11-0,15 мл);*

- пипетки вместимостью 0,1, 0,2, 0,5 и 5,0 мл;

- пробирки стеклянные; вода дистиллированная; перчатки резиновые хирургические.

### ПОЛУЧЕНИЕ КАПИЛЛЯРНОЙ КРОВИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Капилляр Панченкова промыть 3,8% раствором цитрата натрия.

*Для достижения точных результатов рекомендуется использовать входящий в состав данного набора цитрат натрия. Для его разведения во флакон, содержащий сухой реагент, внести 10 мл дистиллированной воды. В результате получают 3,8% раствор, который (для сохранения стабильной концентрации при хранении) разливают по 0,9-1,0 мл в пластиковые или стеклянные флаконы и замораживают при -8...-20°C на срок до 1 месяца. Перед использованием один из флаконов с 3,8% раствором цитрата натрия размораживают и хранят в течение 1 дня. Этого флакона достаточно для приготовления до 30 образцов стабилизированной цитратом капиллярной крови.*

2. После обработки спиртом и прокола мякоти пальца скарификатором первую каплю крови удалить ватным тампоном.

3. В капилляр набрать 3,8% раствор цитрата натрия до деления "80". Затем в тот же капилляр добрать кровь так, чтобы общий объем жидкости достиг деления "0".

4. Полученную смесь перенести в чистую пробирку.

5. В тот же капилляр повторно набирать кровь до деления "0".

6. В пробирке смешать обе порции крови, дополнительно перемешать их пипетированием. При этом получают капиллярную кровь, стабилизированную 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1.

*При значительных изменениях гематокрита (ниже 35% или выше 55%) перерасчитывают необходимое соотношение объемов крови и стабилизатора (см. Руководство: З.С.Баркаган, А.П.Момот. Основы диагностики нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 1999, с. 192).*

7. Калиброванной пипеткой внести по 100 мкл (0,1 мл) стабилизированной крови в две кюветы для коагулометра или в две чистые пробирки (при мануальном определении). До исследования (не более 30 мин) образцы крови хранят при комнатной температуре (+18...+25°C), желательно в герметично закрытом виде.

*При получении крови из пальца следует избегать давления на мягкие ткани, поскольку это увеличивает содержание в капиллярной крови тканевой жидкости и влияет на результаты анализа. Не допускается также анализ крови, содержащей избыток цитрата натрия (например, забранной у больного в соотношении 4:1) и полученной более 30 мин назад. В последнем случае объем крови в кювете (или пробирке) уменьшается за счет высыхания.*

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

#### 1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

##### А. Разведение Техпластина (К)

В один флакон с Техпластином (К) внести 5,0 мл растворителя для Техпластина (К). Флакон встряхнуть и выдержать при температуре +37°C (на водяной бане) в течение 20 мин. Перед каждым определением разведенный реагент перемешать с тем, чтобы не было осадка.

<sup>1</sup> МИЧ определяется фирмой-изготовителем по международной стандартной процедуре на коагулометре "Тромбостат" фирмы Behnk Elektronik

Полученную суспензию можно использовать в течение 6 ч в условиях хранения при температуре +37°C, в течение 48 ч - при комнатной температуре (+18...+25°C) и в течение 7 дней - при температуре +2...+8°C.

## Б. Разведение контрольной плазмы

Во флакон с контрольной плазмой внести **0,4** мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную плазму перед использованием выдержать 25-30 мин при комнатной температуре. Использовать для получения нормативных данных и контроля активности разведенного Техпластина (К).

## 2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

### А. Определение контрольных (нормальных) показателей

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести **0,1** мл контрольной плазмы.
2. Инкубировать при температуре +37°C 1 мин.
3. Добавить **0,2** мл разведенного Техпластина (К), имеющего температуру +37°C и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

Определение дублируют, рассчитывают средний результат.

В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет 11-14 с, при мануальной технике определения - 12-15 с.

### Б. Исследование капиллярной крови больных

1. Кювету коагулометра с **0,1** мл крови больного (или пробирку при мануальном определении) инкубировать при температуре +37°C 1 мин.
2. Добавить **0,1** мл разведенного Техпластина (К), имеющего температуру +37°C и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

Определение дублируют, рассчитывают средний результат.

**Чтение результатов.** Результат выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают протромбиновое время (ПВ) в секундах у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.
2. Рассчитывают протромбиновое отношение (ПО) по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ \text{ капиллярной крови больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы}}$$

В норме ПО составляет 0,7-1,1.

3. При контроле за непрямыми антикоагулянтами определяют международное нормализованное отношение (МНО) исходя из ПО и международного индекса чувствительности (МИЧ), который для данной серии тромбластина составляет **1,1**.

#### Последовательность расчета:

А) 
$$ПО = \frac{ПВ \text{ капиллярной крови больного}}{ПВ \text{ контрольной плазмы}}$$

Б) 
$$МНО = ПО^{МИЧ}$$

**Пример:** ПВ крови больного, получающего непрямые антикоагулянты - 36 с. ПВ контрольной плазмы - 12 с. МИЧ - 1,1.

В этом случае  $МНО = ПО^{МИЧ} = (36 : 12)^{1,1} = 3,00^{1,1} = 3,35$ .

Нормальное МНО близко к 1,0. При лечении антикоагулянтами непрямого действия доводят МНО до 2,0-3,5, в зависимости от клинических показаний. Чем выше МНО, тем значительнее полученная гипокоагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения.

**Таблица пересчета ПО в МНО при чувствительности тромбластина (МИЧ), равной 1,1.**

ПО	МНО	ПО	МНО	ПО	МНО	ПО	МНО
0,70	<b>0,68</b>	2,60	<b>2,86</b>	4,50	<b>5,23</b>	6,40	<b>7,71</b>
0,80	<b>0,78</b>	2,70	<b>2,98</b>	4,60	<b>5,36</b>	6,50	<b>7,84</b>
0,90	<b>0,89</b>	2,80	<b>3,10</b>	4,70	<b>5,49</b>	6,60	<b>7,97</b>
1,00	<b>1,00</b>	2,90	<b>3,23</b>	4,80	<b>5,62</b>	6,70	<b>8,10</b>
1,10	<b>1,11</b>	3,00	<b>3,35</b>	4,90	<b>5,74</b>	6,80	<b>8,24</b>
1,20	<b>1,22</b>	3,10	<b>3,47</b>	5,00	<b>5,87</b>	6,90	<b>8,37</b>
1,30	<b>1,33</b>	3,20	<b>3,59</b>	5,10	<b>6,00</b>	7,00	<b>8,50</b>
1,40	<b>1,45</b>	3,30	<b>3,72</b>	5,20	<b>6,13</b>	7,10	<b>8,64</b>
1,50	<b>1,56</b>	3,40	<b>3,84</b>	5,30	<b>6,26</b>	7,20	<b>8,77</b>
1,60	<b>1,68</b>	3,50	<b>3,97</b>	5,40	<b>6,39</b>	7,30	<b>8,91</b>
1,70	<b>1,79</b>	3,60	<b>4,09</b>	5,50	<b>6,52</b>	7,40	<b>9,04</b>
1,80	<b>1,91</b>	3,70	<b>4,22</b>	5,60	<b>6,65</b>	7,50	<b>9,17</b>
1,90	<b>2,03</b>	3,80	<b>4,34</b>	5,70	<b>6,78</b>	7,60	<b>9,31</b>
2,00	<b>2,14</b>	3,90	<b>4,47</b>	5,80	<b>6,91</b>	7,70	<b>9,44</b>
2,10	<b>2,26</b>	4,00	<b>4,59</b>	5,90	<b>7,05</b>	7,80	<b>9,58</b>
2,20	<b>2,38</b>	4,10	<b>4,72</b>	6,00	<b>7,18</b>	7,90	<b>9,71</b>
2,30	<b>2,50</b>	4,20	<b>4,85</b>	6,10	<b>7,31</b>	8,00	<b>9,85</b>
2,40	<b>2,62</b>	4,30	<b>4,98</b>	6,20	<b>7,44</b>		
2,50	<b>2,74</b>	4,40	<b>5,10</b>	6,30	<b>7,57</b>		

## УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Набор рассчитан на проведение 50 анализов (в дубликатах). Один флакон с Техпластином (К) рассчитан на 25 анализов капиллярной крови (в дубле) при расходе реагентов по 0,1 мл на 1 анализ.

Хранение Техпластин-теста (К) должно проводиться при температуре +2...+8°C в течение всего срока годности (12 мес.). Допускается хранение при температуре до +25°C в течение 7 дней и **не более 3 дней** при температуре +30...+37°C.

Разведенный Техпластин (К) можно хранить при температуре +37°C не более 6 ч, комнатной температуре (+18...+25°C) - не более 48 ч или не более 7 дней - при температуре +2...+8°C, не замораживать.

Возможная ошибка при хранении и применении раствора Техпластина (К): использование на следующий день ранее прогретого при температуре +37°C реагента. Последнее закономерно приводит к удлинению протромбинового времени свертывания в контроле.

Контрольную плазму после разведения можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

Цитрат натрия после его разведения (или размораживания) можно хранить при комнатной температуре до 1 дня и до 1 месяца в герметично закрытой посуде при -8...-20°C.

Исследование венозной крови (или полученной из нее плазмы) реагентами данного набора не допускается. В этом случае следует пользоваться набором "Техпластин-тест".