

HemoStat Thrombin Time

Тромбин-реактив для ручного и автоматического определения тромбинового времени

Торговая форма

№ заказа: 34 002 6 x 1 мл реактив тромбинового времени для 60 тестов

Цель применения

Фибриноген (фактор I) является растворимым протеином плазмы, имеющим решающее значение в нормальном процессе свёртывания. После травмы или ранения фибриноген в ходе двухэтапного процесса переходит в нерастворимый фибрин. На этапе 1 тромбин расщепляет фибриноген в фибринмономер. На этапе 2 эти фибринмономеры скапливаются в нерастворимый фибринполимеризат, который является конечным продуктом при определении тромбинового времени.

Определение тромбинового времени применяется обычно для контроля лечения гепарином.

Принцип теста

HemoStat Thrombin Time является простым тестом для определения условий, которые оказывают влияния на переход фибриногена в фибрин. Тромбин с низкой активностью добавляется к неразбавленной плазме и замеряется время до наступления свёртывания.

Содержимое

6 x 1 мл реактив тромбинового времени
Реактив для определения тромбинового времени (коровий)
Лиофилизат для 1,0 мл
Хранить при 2...8°C.

Подготовка реактивов

Влагосодержание восстановить с точно отмеренным 1,0 мл дистиллированной воды (см. примечание). Осторожно перемешать до полного растворения. Восстановленный раствор стабилен в течение 8 часов при 2...8°C.

Перед применением довести до комнатной температуры.

Неиспользованную часть раствора тромбина можно заморозить в течение 4 часов после восстановления влагосодержания и хранить максимум 30 дней. Перед употреблением необходимо быстро разморозить при 37°C и использовать в течение 4 часов.

Повторно не замораживать.

Исследуемый материал

Получение пробы: Проба крови может быть получена через пункцию вены или через имеющийся катетер.

Антикоагулянты: Для теста на свёртывание использовать в качестве антикоагулянта цитрат натрия 3,2% (0,109 M) или 3,8% (0,129 M). Точно соблюдать соотношение смешивания: 9 частей крови к 1 части цитрата.

Подготовка пробы:

Кровь осторожно смешать с антикоагулянтом непосредственно после взятия. После чего центрифугировать 10-15 минут при 2000 оборотах. Затем плазму осторожно отделить, не взбалтывая клеточной составной части крови.

Пробирки с пробамы следует закрывать с тем, чтобы не допустить сдвига pH, который может повлиять на результаты теста.

Пробы, которые хранятся при 22...24°C, должны быть исследованы не позднее 2 часов или не позднее 4 часов, если хранились при 2...4°C. Для более длительного хранения пробы могут быть заморожены: при -20°C хранятся 2 недели, при -70°C хранятся 6 месяцев. Перед исследованием пробы быстро разморозить при 37°C, осторожно покачивая для гомогенизации и безотлагательно анализировать. Замораживать только один раз.^{1,2}

Проведение теста

Определение проб и контроль проводить дважды.

Пипетировать в предварительно подогретые пробирки	
плазма/контроль	0,2 мл
Инкубировать 3 минуты при 37°C	
Добавить пипетировать реактив тромбина	0,1 мл
Стартовать секундомер одновременно с внесением реагента	
Записать время до наступления свёртываемости	

Результаты

Вычислить среднее значение из двойного определения тромбинового времени и округлить до 0,1 секунды.

Нормальные значения

Нормальные пробы как правило показывают тромбиновое время между 8 и 14 секундами.

Каждая лаборатория должна установить свои собственные нормы с учётом применяемых приборов, вида получения пробы и обычных тест-методов, применяемых в лаборатории.

Воздействующие субстанции и условия

Тромбиновое время может быть увеличено за счёт следующих условий:

- Сниженная концентрация фибриногена
- Дисфункция фибриногеновых молекул (дисфибриногенемия)
- Лечение гепарином
- Повышенная концентрация продуктов расщепления фибриногена
- Присутствие аномальных глобулинов сыворотки или повышенное содержание иммуноглобулинов^{1,3}

Окончательный диагноз должен ставиться с учётом анамнеза, клинических исследований и результатов тестов *in vitro*.

Контроль качества

Регулярный контроль качества при проведении тестов определения свёртывания обязателен.

Для контроля качества рекомендуем HemoStat Kontrollplasma normal с величинами, находящимися в нормальном диапазоне, и HemoStat Kontrollplasma abnormal с величинами в легко патологическом диапазоне.

Автоматизация

Тест может проводиться с помощью механических или оптических систем свёртывания. Учитывайте указания изготовителя приборов. Для избранных систем по требованию предоставляются в распоряжение инструкции по аппликации.

Примечание

Дистиллированная вода, применяемая для восстановления влагосодержания, должна быть свободна от бактериальных и других загрязнений. Несоответствующая вода может вести к недостоверным результатам и ограниченному сроку хранения.

Литература

1. Bick, R.L. *et al.*, Hematology: Clinical and Laboratory Practice. Mosby, 1993.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1991, Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays.
3. Powers, L.W. Diagnostic Hematology: Clinical and Technical Principles. Mosby, 1989.

CO-TT
INF 3400201 R
01-1998-3



Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de

HemoStat Thromboplastin-SI

Тромбопластин для ручного и автоматического определения протромбинового времени (PT, Quick Test)

Торговая форма

№ заказа: 31 002 6 x 2 мл для 60 тестов

Цель применения

HemoStat Thromboplastin SI (PT-SI) является высоко чувствительным реактивом (ISI 1,0 - 1,3), который используется для одностадийного определения протромбинового времени (PT). Продление PT показывает на приобретённые или врождённые нарушения, которые воздействуют на факторы свёртывания I, II, V, VII и X. Данный метод в связи со снижением активности факторов свёртывания (II, VII, IX, X, протеин C и протеин S), зависящих от витамина K, используется в общем для контроля пациентов, проходящих лечение оральными антикоагулянтами.^(1,2) HemoStat Thromboplastin-SI может применяться для проверки внешнего и общего каскада свёртывания.

Принцип теста

Посредством одностадийного PT определяется время свёртывания плазмы после добавления тканевого фактора (тромбопластина) и кальция. Рекальцифицирование плазмы в присутствии тканевого фактора активирует фактор X с последующим образованием тромбина и, в конечном счете, фибринового сгустка.

Содержание

6 x 2 мл реактив тромбопластин
лиофилизированный экстракт из мозга кролика
хлорид кальция

Хранить при 2...8°C.

Подготовка реактива

Восстановить влажосодержание, добавив точно отмеренные 2 мл дистиллированной воды (см. примечание). Осторожно покачивать до полного растворения.

Может использоваться в течении 7 дней при хранении при 2...8°C, 24 часа при комнатной температуре (15...25°C), 24 часа при 37°C. Рекомендуется хранение при 2...8°C, за исключением времени проведения тестов.

Восстановленный реактив не замораживать!

Материал для пробы

Получение пробы: Проба крови может быть взята через пункцию вены или через положенный катетер.

Антикоагулянты: Для теста свёртывания применять цитрат натрия 3,2% (0,109 M) или 3,8% (0,129 M). Точно соблюдать соотношение при смешивании: 9 частей крови к 1 части цитрата.

Подготовка пробы: Кровь осторожно смешать с антикоагулянтом непосредственно после взятия. Центрифугировать в течении 10 - 15 минут при 2000 оборотах. Осторожно взять плазму, не смешивая с клеточной составной частью.

С тем чтобы не допустить изменений pH, которые могут повлиять на результаты теста, пробирки с пробями следует закрывать.

Если пробы хранятся при 22...24°C, то их следует исследовать в течение 2 часов, если пробы хранятся при 2...4°C, то исследование следует провести не позднее 4 часов. Для более длительного срока хранения пробы необходимо заморозить: при -20°C они могут храниться 2 недели, а при -70°C возможно хранение в течение 6 месяцев. Пробы быстро разморозить при 37°C, осторожно покачивать для гомогенизации и сразу же анализировать. Допускается замораживать только один раз.^(3,6)

Лучшая стойкость при 37°C!

Проведение теста

Пробы и контроли проводить дважды.

HemoStat Thromboplastin-SI реактив подогреть до 37°C.

пипетировать в предварительно подогретые пробирки	
плазма / контрольная плазма	0,1 мл
инкубировать 3-5 минут при 37°C	
Допипетировать реактив тромбопластин-SI	0,2 мл
Одновременно с добавлением реактива стартовать секундомер. Записать время прошедшее до образования сгустка.	

Результаты

Вычислить среднюю величину из двойного определения протромбинового времени и округлить величину до 0,1 секунды. Результат может быть выдан в секундах, INR (см. ниже) или в % от нормы (Quick %).

INR (International Normalized Ratio): Каждая лаборатория должна определить свои специфические нормальные значения в секундах (X_{NRR}) (исследование банка плазм 100 здоровых доноров, в случае если это невозможно сделать, то можно взять HemoStat Control Plasma Normal). Полученные значения пациента (секунды) разделить на нормальную величину (секунды). В зависимости от серийно-специфического ISI-значения прочитать ISI-значение в прилагаемой таблице значений INR.

% от нормы (Quick): Плазму банка (см. выше под «INR») или HemoStat Control Plasma Normal растворить с физиологическим раствором поваренной соли (0,9%) и на основании полученных результатов составить эталонную кривую, по которой можно считать значения пациента.

Схема разведения.

Банк плазмы	не развед.	1+1	1+3	1+7	1+15	1+30
% от нормы	100%	50%	25%	12,5%	6,25%	3,2%

Фотометрический коагулометр HUMACLOT распечатывает все три результата автоматически для каждого пациента.

Окончательный диагноз должен ставиться с учётом анамнеза, клинического диагноза и результатов тестов *in vitro*.

Нормальные значения

Для нормальной плазмы результат лежит в пределах 10-14 секунд.

Время свёртывания зависит от соответствующих ISI-значений используемой серии.

Каждая лаборатория должна установить свои собственные нормальные значения с учётом применяемых приборов, способа получения пробы и обычных тест-методов, применяемых в лаборатории.

Субстанции, оказывающие влияние

Протромбиновое время может продлеваться под воздействием таких субстанций как кортикостероиды, ЭДТА, оральные противозачаточные средства, аспарагиназа, клофибрат, эритромицин, этанол, тетрациклин и антикоагулянты, а также гепарин и кумарин⁽⁴⁾.

Протромбиновое время может сокращаться под воздействием таких субстанций как антигистамины, барбитураты, кофеин, оральные противозачаточные средства, витамин K⁽⁴⁾.

Автоматизация

Тест может проводиться при помощи механических или оптических систем свёртывания. Учитывайте пожалуйста инструкции изготовителя приборов. Для избранных систем прикладные инструкции предоставляется в распоряжение по требованию.

Примечание

Дистиллированная вода, применяемая для восстановления влажосодержания реактива, должна быть свободной от бактериальных и других загрязнений. Несоответствующая вода может вести к недостоверным результатам или к ограниченному сроку хранения.

Контроль качества

Регулярный контроль качества является обязательным при исследовании свёртывания.

Для контроля качества рекомендуем HemoStat Kontrollplasma normal с нормальными значениями и Kontrollplasma abnormal со значениями, имеющими лёгкое патологическое отклонение.

Контроль оральной терапии антикоагулянтами

Для максимизирования желаемого терапевтического эффекта и минимизирования риска кровотечения ВОЗ рекомендует стандартизированные тесты и методы лечения. Этот метод основан на интернациональном нормированном коэффициенте INR (International Normalized Ratio)^(4,5). INR вычисляется по следующей формуле при использовании соотношения PT пациента к среднему PT коллективной нормы (X_{NRR}):

$$INR = \left(\frac{Patient\ PT}{\overline{X}_{NRR}} \right)^{ISI}$$

Интернациональный индекс чувствительности (ISI) является мерой для чувствительности тромбопластина/инструментальной системы к факторам свёртывания. Значения ISI были установлены в сравнении с первичным референтным материалом тромбопластина ВОЗ. Высокочувствительные реактивы имеют низкие значения ISI.

При помощи нижеследующей таблицы можно быстро считать соответствующие данные из измеренного PT пациента и нормального PT для различных серий HemoStat Thromboplastin-Si.

В общем рекомендуется установка пациента, проходящего лечение стабилизированной антикоагулянтной терапией, на значение INR между 2,0 и 3,5 в зависимости от клинических показаний⁽²⁾.

Литература

1. Errichetti, A. M. *et al.*, Management of Oral Anticoagulant Therapy: Experience with an Anticoagulation Clinic, Arch. Intern. Med. **144**, 1966-68 (1984)
2. Hirsh, J. *et al.*, Oral Anticoagulants: Mechanisms of Action, Clinical Effectiveness and Optimal Therapeutic Range, Chest **102** (Suppl.), 312S-326S (1992)
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays., NCCLS Document H21-A2 (1991)
4. Young, D. S. *et al.*, Effect of Drugs on Clinical Tests, Clin. Chem. **18**, 1041 (1972)
5. Dalen, J. E., Hirsh, J., American College of Chest Physicians and the National Heart, Lung and Blood Institute National Conference on Antithrombotic Therapy, Arch. Intern. Med. **146**, 462-472 (1986)
6. Musgrave, K. A., Bick, R. L., Quality assurance in the hemostasis laboratory, In Bick, R. L. *et al.*, editors: Hematology, Clinical and Laboratory Practice, Vol. Two, St. Louis, MO, 1993, Mosby, pp. 1309-1315

Значения ISI для этих серий HemoStat Thromboplastin-Si приведены на прилагаемом вкладыше.

Thromboplastin-Si								
Таблица пересчёта INR								
PT пациента X_{NRR}	ISI 1,00	ISI 1,05	ISI 1,10	ISI 1,15	ISI 1,20	ISI 1,25	ISI 1,30	ISI 1,35
INR								
1,0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,1	1,10	1,11	1,11	1,12	1,12	1,13	1,13	1,14
1,2	1,20	1,21	1,22	1,23	1,24	1,26	1,27	1,28
1,3	1,30	1,32	1,33	1,35	1,37	1,39	1,41	1,43
1,4	1,40	1,42	1,45	1,47	1,50	1,52	1,55	1,57
1,5	1,50	1,53	1,56	1,59	1,63	1,66	1,69	1,73
1,6	1,60	1,64	1,68	1,72	1,76	1,80	1,84	1,89
1,7	1,70	1,75	1,79	1,84	1,89	1,94	1,99	2,05
1,8	1,80	1,85	1,91	1,97	2,02	2,08	2,15	2,21
1,9	1,90	1,96	2,03	2,09	2,16	2,23	2,30	2,38
2,0	2,00	2,07	2,14	2,22	2,30	2,38	2,46	2,55
2,1	2,10	2,18	2,26	2,35	2,44	2,53	2,62	2,72
2,2	2,20	2,29	2,38	2,48	2,58	2,68	2,79	2,90
2,3	2,30	2,40	2,50	2,61	2,72	2,83	2,95	3,08
2,4	2,40	2,51	2,62	2,74	2,86	2,99	3,12	3,26
2,5	2,50	2,62	2,74	2,87	3,00	3,14	3,29	3,45
2,6	2,60	2,73	2,86	3,00	3,15	3,30	3,46	3,63
2,7	2,70	2,84	2,98	3,13	3,29	3,46	3,64	3,82
2,8	2,80	2,95	3,10	3,27	3,44	3,62	3,81	4,01
2,9	2,90	3,06	3,23	3,40	3,59	3,78	3,99	4,21
3,0	3,00	3,17	3,35	3,54	3,74	3,95	4,17	4,41
3,1	3,10	3,28	3,47	3,67	3,89	4,11	4,35	4,61
3,2	3,20	3,39	3,59	3,81	4,04	4,28	4,54	4,81
3,3	3,30	3,50	3,72	3,95	4,19	4,45	4,72	5,01
3,4	3,40	3,61	3,84	4,09	4,34	4,62	4,91	5,22
3,5	3,50	3,73	3,97	4,22	4,50	4,79	5,10	5,43
3,6	3,60	3,84	4,09	4,36	4,65	4,96	5,29	5,64
3,7	3,70	3,95	4,22	4,50	4,81	5,13	5,48	5,85
3,8	3,80	4,06	4,34	4,64	4,96	5,31	5,67	6,06
3,9	3,90	4,17	4,47	4,78	5,12	5,48	5,87	
4,0	4,00	4,29	4,59	4,92	5,28	5,66	6,06	
4,1	4,10	4,40	4,72	5,07	5,44	5,83		
4,2	4,20	4,51	4,85	5,21	5,60	6,01		
4,3	4,30	4,63	4,98	5,35	5,76			
4,4	4,40	4,74	5,10	5,50	5,92			
4,5	4,50	4,85	5,23	5,64	6,08			
4,6	4,60	4,96	5,36	5,78				
4,7	4,70	5,08	5,49	5,93				
4,8	4,80	5,19	5,62	6,07				
4,9	4,90	5,31	5,74					
5,0	5,00	5,42	5,87					
5,1	5,10	5,53	6,00					
5,2	5,20	5,65						
5,3	5,30	5,76						
5,4	5,40	5,88						
5,5	5,50	5,99						
5,6	5,60	6,10						
5,7	5,70							
5,8	5,80							
5,9	5,90							
6,0	6,00							

CO-TPSI
INF 3100201 R
12-1998-4



Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de

HemoStat aPTT-EL

для ручного и автоматического определения активированного парциального тромбопластинового времени с Ellag-кислотой в качестве активатора

Торговая форма

№ заказа: 33002 6 x 4 мл (240 тестов) полный набор
33012 6 x 4 мл (240 тестов) aPTT-EL реактив
33022 4 x 30 мл CaCl₂ (0,02 моль/л)

Обобщение

Активированное парциальное тромбопластиновое время (aPTT) является простым и достоверным тестом, чувствительным ко всем плазмасвёртывающим факторам, за исключением фактора VII. Предпочтение тесту aPTT отдается для распознавания недостатка свёртывающих механизмов первой ступени, а именно факторов VIII, IX, XI, XII и прекалликреина (фактор Флетчера).

Принцип теста

В тесте HemoStat aPTT-EL реактив aPPT, содержащий активатор плазмы и фосфолипиды, смешивается с пробой. Фосфолипид служит заменителем пластинок крови. Смесь инкубируется в течении 3 минут при 37°C, чтобы достичь оптимальной активации. Смесь рекальцифицируется хлоридом кальция и измеряется время свёртывания. Реактив aPTT-EL может также использоваться для количественного определения факторов свёртывания.

Содержание и подготовка реактивов

1. HemoStat aPTT-EL

№ заказа: 33002 6 x 4 мл
33012 6 x 4 мл
Экстракт хлороформа из мозга кролика
Ellag-кислота

Хранить при 2...8°C.

Не замораживать!

Раствор готов к употреблению.

Открытые флаконы стабильны в течение 30 дней при 2...8°C.

После длительного хранения может образовываться жёлтый осадок, в этом случае перед использованием реактива необходимо флакончик с раствором осторожно переворачивать и покачивать до исчезновения осадка.

2. CaCl₂

№ заказа: 33 002 6 x 4 мл
33 022 4 x 30 мл
хлорид кальция 0,02 моль/л

Хранить при 2...8°C.

Раствор готов к употреблению.

Предостережение: Раствор содержит кислот натрия (0,095%). Не вдыхать, избегать контакт с кожей и слизистыми оболочками. В случае попадания на кожу или слизистые оболочки необходимо промыть большим количеством воды.

Материал для пробы

Получение пробы: Пробу крови можно получить через пункцию вены или проложенный катетер.

Антикоагулянты: Для теста свёртывания применять цитрат натрия 3,2 % (0,109 М) или 3,8% (0,129 М). Точно соблюдать соотношение: 9 частей крови к 1 части цитрата.

Подготовка пробы: Кровь осторожно смешать с антикоагулянтом сразу после взятия. Центрифугировать в течение 10-15 минут при 2000 оборотах. Затем осторожно отделить плазму не касаясь клеточной составной части крови. Закрывать пробирки с пробой с тем, чтобы не допустить изменений pH, которые могут повлиять на результаты теста. Пробой, которые хранятся при 22...24°C, должны быть исследованы в течение 2 часов, те что хранятся при 2...4°C – в течение 4 часов. Для более длительного хранения пробы необходимо заморозить: при -20°C пробы могут сохраняться 2 недели, а при -70°C - 6 месяцев. Перед использованием пробы необходимо быстро подогреть до 37°C, осторожно покачивая

для гомогенизации и безотлагательно анализировать. Замораживать только один раз.^(1,5)

Проведение теста

Проводить двойные анализ проб и контроль.
HemoStat CaCl₂ (0,02 М) (2) подогреть до 37°C.

Пипетировать в подогретые пробирки	
Плазма /контроль	0,1 мл
Инкубировать 1-2 минуты при 37°C	
Добавить пипеткой aPTT-EL реагент (1)	0,1 мл
Инкубировать 3 минуты при 37°C	
Добавить пипеткой предварительно подогретый CaCl ₂ (2)	0,1 мл
При добавлении CaCl ₂ стартовать секундомер	
Замерить время до начала свёртывания	

Ожидаемые величины

Результаты

Вычислить среднюю величину из двойного определения aPTT и округлить до 0,1 секунды.

Нормальный диапазон

С помощью теста HemoStat aPTT-EL было измерено время свёртывания механическими и фото-оптических приборами на нормальной популяции. Были получены следующие результаты:

	Средняя величина (сек.)	2 S.D. диапазона
механически	29,8	23,4 – 36,2
Фото-оптически	30,7	26,1 – 36,3

Каждая лаборатория должна установить свои границы нормы, в зависимости от применяемых приборов, от способа получения пробы и тест-методов, обычно используемых в лаборатории.

В общем достаточны 40% нормальной концентрации факторов VIII, IX, XI, XII, для того чтобы были показаны нормальные результаты aPTT. С другой стороны aPTT намного удлиняется, если один из названных факторов ниже 40% нормальной концентрации. Гепарин в присутствии достаточного количества антитромбина III также продлевает aPTT.

aPTT-EL также чувствителен к люпус-антикоагулянтам (ЛА). Присутствие ЛА продлевает время свёртывания.

Субстанции, оказывающие влияние

- Оксалат натрия, этилендиаминтетраацетат и гепарин являются неподходящими антикоагулянтами.
- Следующие субстанции или условия оказывают влияние на aPTT: оральные противозачаточные средства, эстрогены, беременность, фармацевтические средства типа кумарин, гепарин, аспарагиназа и налоксон.⁽²⁾

Чувствительность к гепарину

aPTT используется в общем и целом для контроля лечения гепарином, т.к. удлинение aPTT прямо пропорционально концентрации гепарина.^(3,4)

Относительная чувствительность реактива aPTT к гепарину может быть определена путем составления кривой чувствительности к гепарину. Это происходит в ходе добавления известного количества гепарина к нормальной плазме и проведения теста aPTT.

Например:

Гепарин (у/мл)	HemoStat aPTT-EL (сек.)
0,0	29,9
0,05	32,8
0,1	38,5
0,2	50,2
0,3	65,2
0,4	82,4
0,5	105,7
0,6	127,9

Каждая лаборатория должна составить свою собственную кривую чувствительности к гепарину, применяя тот же гепарин, который будет применяться для терапии.^(3,4)

Факторы чувствительности

Поскольку аРТТ чувствителен к недостатку эндогенных факторов свертывания, он пригоден как в качестве скринингового теста, так и в качестве теста для количественного определения факторов VIII, IX, XI, XII и прекалликреина (Фактор Флетчера).

HemoStat аРТТ проверялся с плазмами, в которых отмечался умеренный или ярко выраженный недостаток факторов со следующими результатами:

	% фактор	сек.
Фактор VIII	< 1%	82,0
	20 %	44,8
Фактор IX	< 1%	83,5
	20 %	40,9
Фактор XI	< 1%	134,2
	20 %	47,8
Фактор XII	< 1%	> 200
	20%	36,2
Прекалликреин	< 1%	69,5

Окончательный диагноз должен ставиться с учетом анамнеза, результатов клинического обследования и тестов *in vitro*.

Контроль качества

Регулярный контроль качества при исследованиях свертывания обязателен.

Для контроля качества мы рекомендуем HemoStat Kontroll-plasma normal со значениями в нормальном диапазоне и HemoStat Kontroll-plasma abnormal со значениями в легкопатологическом диапазоне.

Автоматизация

Тест может проводиться при помощи механических и оптических систем свертывания. Принимайте пожалуйста во внимание указания изготовителя прибора. Для некоторых систем инструкции по аппликации предоставляется в распоряжение по требованию.

Литература

1. National Committees for Clinical Laboratory Standards: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays, 1991. NCCLS Document H21-A2.
2. Young, D.S. *et al.*, Effect of Drugs on Clinical Laboratory Test. Clin. Chem. **18**, 1041 (1972)
3. Brandt, J.T., Triplett, D.A., Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments in the Activated Partial Thromboplastin Time, Amer. J. Clin. Path. **76**, 530 (1981)
4. Thomson, J.M., The Control of Heparin Therapy by the Activated Partial Thromboplastin Time. Sensitivity of Various Thromboplastins to Heparin. Standardization of Coagulation Assays: An Overview. Edited by D.A. Triplett, College of American Pathologists, Skokie, Ill. 1982, pp 195.
5. Banez, E.I. *et al.*, Laboratory Monitoring of Heparin Therapy. The Effect of Different Salts of Heparin on the Activated Partial Thromboplastin Time, Amer. J. Clin. Path. **74**, 569 (1980)

CO-APTT
INF 3300201 R
01-1998-3

human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de

HemoStat Control Plasma

Нормальная и аномальная

Торговая форма

№ заказа: 35 001 6 x 1 мл Контрольная плазма нормальная (CPN)
35 002 6 x 1 мл Контрольная плазма аномальная (CPA)

Обобщение

HemoStat Kontrollplasma Normal (CNP) и Abnormal (CPA) служит для контроля качества тестов, определяющих свёртывание, как то: протромбиновое время, активированное парциальное тромбопластиновое время, тромбиновое время и определение фибриногена.

Значения в **HemoStat Kontrollplasma Normal** лежат в диапазонах, которые обычно достигаются для свежей нормальной плазмы.

Время свёртывания в **HemoStat Kontrollplasma Abnormal** находится для большинства параметров в диапазонах, которые находятся обычно выше, чем ожидаемые для свежей нормальной плазмы.

Целевые значения и разрешённые диапазоны приведены в таблице, прилагаемой к упаковке теста.

Подготовка реактивов и стойкость

HemoStat Kontrollplasma Normal и **Abnormal** поставляются в лиофилизированной форме. Они получены из человеческой цитратной плазмы (4%) и так установлены, что ожидаемое время свёртываемости достигается.

Восстановить влажностное содержание точно отмеренным 1,0 мл дистиллированной воды (см. Указание). Осторожно покачивать, не переворачивая, и оставить постоять при комнатной температуре в течение 15 минут. Избегать сильного взбалтывания и перемешивания.

Контрольная плазма сохраняется при 2...8°C до указанного на этикетке срока годности.

После восстановления реактив можно использовать в течение 8 часов, если он хранится в закрытом флаконе при 2...8°C.

Перед использованием содержимое флакона перемешать, путём осторожного покачивания. Флаконы не переворачивать.

Контрольная плазма используется так же, как и пробы пациентов.

Предостережение:

1. Контрольная нормальная и аномальная плазмы содержат ацид натрия (0,095%). Не вдыхать, не допускать соприкосновения с кожей и слизистыми оболочками. Удалять с большим количеством воды.
2. Каждая донорская проба, применяемая для получения контрольной плазмы была исследована на наличие HBsAg, вируса гепатита С и антител ВИЧ и была признана не реактивной. Поскольку не существует методов тестирования, которые полностью могли бы исключить инфекционность, с контрольной плазмой следует обращаться, как с потенциально инфекционным материалом.

Указание

Дистиллированная вода, применяемая для восстановления влажностного содержания, должна быть свободна от бактериальных и других загрязнений. Непригодная вода может вести к недостоверным результатам и ограниченному сроку хранения.

CO-CPNA
INF 3500101 R
01-2002-3

human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de



HemoStat Fibrinogen

для ручного и автоматического
определения фибриногена плазмы

Торговая форма

№ заказа: 32002	5 x 2 мл	для 100 тестов, полный набор
32012	6 x 2 мл	для 120 тестов, тромбин-реактив (100 NIH)
32022	4 x 100 мл	буфер имидазол в растворе NaCl (IBS)
32032	6 x 1 мл	Фибриноген-референтная плазма

Цель применения

Фибриноген является протеином плазмы, который под действием тромбина переходит из растворимой в нерастворимую полимерную форму с образованием фибринового сгустка.

Определение концентрации фибриногена в плазме в целом акцентируется как тест для диагноза, контроля лечения и прогнозирования различных геморрагических заболеваний. Высокая концентрация фибриногена сегодня считается фактором риска для сердечно-сосудистых заболеваний.⁽¹⁾

Принцип теста

Тест HemoStat Fibrinogen основывается на общеиспользуемом методе, который впервые описал Клаусс.⁽⁴⁾

Оптимальное количество (бычьего) тромбина смешивается с предварительно разведённой в соотношении 1:10 пробой плазмы. Измеренное время свёртывания обратно пропорционально концентрации фибриногена в пробе.

Уровень фибриногена можно определить посредством калибрационной кривой, которая строится с помощью стандартизированной фибриногеновой референтной плазмы с разведениями в соотношениях 1:5, 1:10 и 1:15. После нанесения на логарифмическую бумагу с двойной сеткой получится линейное соотношение между концентрацией фибриногена и временем свёртывания. Концентрации фибриногена в плазмах пациентов интерполируются на этой референтной кривой и высчитываются с учетом фактора разведения.

Содержание и подготовка реактивов

1. HemoStat Фибриноген

№ заказа: 32 002	5 x 2 мл
32 012	6 x 2 мл

Фибриноген-реактив

тромбин (бычий), 100 NIH единиц/мл

Хранить при 2...8°C.

Влагосодержание восстановить точно отмеренными 2 мл дистиллированной воды (см. примечание 3). Осторожно перемешать до полного растворения.

Полученный раствор стабилен в течение 8 часов при 15...25°C, и 7 дней при 2...8°C.

Если будет заморожен в течение 4 часов, то может применяться в течение 30 дней. Размораживать быстро при 37°C.

Повторное замораживание запрещено!

Реактив перед использованием довести до комнатной температуры.

2. HemoStat Имидазоловый буфер

№ заказа: 32 002	1 x 100 мл
32 022	4 x 100 мл

Имидазол 0,05 моль/л

NaCl 0,58%

Ацид натрия 0,095%

Хранить при 2...8°C.

После вскрытия можно использовать до указанного срока годности. Избегать загрязнения!

3. HemoStat Фибриноген-референтная плазма

№ заказа: 32 002	2 x 1 мл
32 032	6 x 1 мл

Нормальная плазма (человеческая).

Хранить при 2...8°C.

Влагосодержание восстановить точно отмеренным 1,0 мл дистиллированной воды (см. Примечание 3). Осторожно покачивать до полного растворения. Полученный раствор стабилен 8 часов при 2...8°C. Неиспользованную плазму можно заморозить при -20°C и храниться в течение 30 дней.

Концентрация фибриногена указана на этикетке флакона.

Исследуемый материал

Получение пробы: Проба крови может быть получена через пункцию вены или через положенный катетер.

Антикоагулянты: Для теста свёртывания можно использовать цитрат натрия 3,2% (0,109 M) или 3,8% (0,129 M). Точно соблюдать соотношение 9 частей крови к 1 части цитрата.

Приготовление пробы: Непосредственно после взятия кровь осторожно смешать с антикоагулянтом. После чего центрифугировать в течение 10-15 минут при 2000 оборотах. Затем плазму осторожно отделить, не взбалтывая клеточной составной части крови.

Пробирки с пробой следует плотно закрывать с тем, чтобы не допустить сдвига pH, могущего повлиять на результаты теста.

Пробы, которые хранятся при 22...24°C должны быть исследованы в течение 2 часов и не позднее 4 часов, если они хранятся при 2...4°C. Для более длительного хранения пробы необходимо заморозить при -20°C, в этом случае они могут сохраняться в течение 2 недель, или 6 месяцев, если заморожены при -70°C. Размораживать пробы необходимо быстро при 37°C, осторожно покачивая для гомогенизации и безотлагательно анализировать. Замораживать только один раз!^(2,3)

Плазму до применения развести с IBS (2) в соотношении 1:10 :

0,9 мл имидазолового буфера ввести в пробирку размером 12 x 75 мм.

0,1 мл плазмы добавить к этому раствору и перемешать (это разведение соответствует 1:10).

Для времени свёртывания ниже 8 секунд рекомендуется разведение 1:20, для времени свёртывания выше 25 секунд – разведение 1:5 или 1:3. Для расчёта концентрации фибриногена применять правильные факторы разведения. Пробы разводить как минимум в соотношении 1:3, с тем чтобы минимизировать интерференцию.

Разведённую пробу использовать в течение 15 минут.

Референтная кривая фибриногена

Разведение референтной плазмы фибриногена (3) производить следующим образом :

Разведение	Фибриноген референтная плазма (мл)	Имидазоловый буфер (IBS) мл
1:5	0,1	0,4
1:10	0,1	0,9
1:15	0,1	1,4
1:20	0,1	1,9
1:40	0,1	3,8

Установить среднюю величину времени свёртывания на основании двойного определения и нанести концентрацию фибриногена для каждого разведения референтной плазмы на логарифмическую бумагу напротив времен. Это отношение является линейным.

Пример: референтная плазма фибриногена = 257 мг/дл (см. рис. 1)

Разведение	Фактор разведения	Концентрация (мг/дл)	Среднее время свёртывания (сек.)
1:5	5	51,4	6,6
1:10	10	25,7	12,8
1:15	15	17,1	17,9
1:20	20	12,9	24,8
1:40	40	6,4	47,3

Пробы	Разведение	Фактор разведения	Ср. время свёрт.	Концентрация
# 1	1:10	10	12,1	280
# 2	1:3	3	17,7	53
# 3	1:20	20	11,2	520

Проведение теста

Определение проб, разведения референтной плазмы и контроль проводить дважды.

Предварительно развести пробы, референтную плазму и контроли.

В предварительно подогретые пробирки для теста пипетировать	
Разведение пробы/референта/контроля	0,2 мл
4-6 минут инкубировать при 37°C	
Фибриноген-реактив (1) пипетировать туда же	0,1 мл
Секундомер стартовать одновременно с добавлением реактива	
Записать время до наступления свёртывания	

Концентрация фибриногена

Вычислить среднюю величину времени свёртывания из двойного определения для каждой плазмы и округлить до 0,1 секунды.

Интерполировать концентрацию в мг/дл с помощью средней величины из референтной кривой. Результат перемножить с соответствующим фактором разведения для получения общей концентрации фибриногена.

Нормальные значения: 150-375 мг/дл

Каждая лаборатория должна установить свой собственный нормальный диапазон, принимая во внимание используемые приборы, вид получения пробы и тест-методы, применяемые обычно в лаборатории.

Влияющие субстанции

1. Повышенная концентрация продуктов расщепления фибриногена (30 μ г/мл) может вести к увеличению времени свёртывания.
2. Гепарин при концентрации выше 5 (U.S.P.) ед./мл может вести к увеличению времени свёртывания.

Окончательный диагноз ставить учитывая анамнез, результаты клинического исследования и результаты тестов *in vitro*.

Контроль качества

Регулярный контроль качества при исследовании свёртывания обязателен.

Для контроля качества мы рекомендуем HemoStat Kontroll-plasma normal и abnormal, чтобы обеспечить надежность системы.

Автоматизация

Тест может проводиться механически или с помощью оптических систем свёртывания. Соблюдайте Инструкции изготовителя приборов. Для некоторых избранных систем по требованию может быть предоставлена инструкция по аппликации.

Примечания

1. Имидазоловый буфер (2) содержит ацид натрия. Не вдыхать, избегать контакта с кожей и слизистыми оболочками. Удалять с большим количеством воды.
2. Каждая донорская проба, применяемая для приготовления фибриногенной референтной плазмы, исследована с помощью методов, допущенных FDA, на HBsAg, HCV и антитела ВИЧ и признана неактивной. Поскольку однако не существует такого тест-метода, который мог бы полностью исключить инфекционность, то с референтной плазмой следует обращаться как с потенциально инфекционным материалом.
3. Дистиллированная вода, применяемая для восстановления влагосодержания, должна быть свободна от бактериальных и других загрязнений. Непригодная вода может вести к недостоверным результатам или к ограниченному сроку хранения.

Литература

1. Fuster, V., Verstraete, M., Thrombosis in Cardiovascular Disorders. W.B. Saunders Company. 1992
2. Musgrave, K.A., Bick, R.L., Quality assurance in the hemostasis laboratory. In Bick, R.L., et al., editors, Hematology: Clinical and Laboratory Practice. Vol. Two. St. Louis, MO. 1993, Mosby, pp. 1309-1315
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays. 1991. NCCLS Document H21-A2.
4. Clauss, A., Acta Haemat 17, 237-246, (1957)

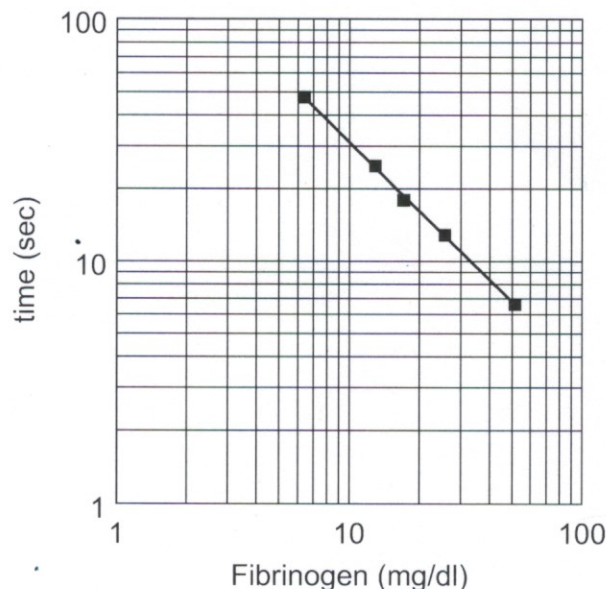


Рис. 1



CO-FIB
INF 3200201 R
01-1998-4