



УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО фирмы
«Технология-Стандарт»

А.П. Момот

2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**по применению Набора реагентов для определения протромбинового времени
(Техпластин-тест)**

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) предназначен для оценки протромбинового времени свертывания на разных коагулометрах, в том числе автоматических, или мануально. Определение протромбинового времени используется при контроле за лечением антикоагулянтами непрямого действия, а также для выявления дисфункции внешнего пути коагуляции.

Набор предназначен только для профессионального использования.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Заключается в определении протромбинового времени – времени образования фибрина в плазме крови в присутствии ионов кальция и тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика).

Состав набора (варианты комплектации):

Комплектация № 1

- Техпластин (тромбопластин-кальциевая смесь), 10 мл - 4 фл.

Комплектация № 2

- Техпластин (тромбопластин-кальциевая смесь), 10 мл - 10 фл.

Международный индекс чувствительности (МИЧ) указан в паспорте к набору.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени не более 10 %.

Допустимое отклонение протромбинового времени от аттестованного значения не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе азмы крови разными наборами одной серии не более 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

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

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны и проверены на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

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, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- коагулометр (при отсутствии коагулометра - секундомер, водяная баня на +37 °С, пробирки стеклянные);
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,05-0,2, 0,1-1,0 мл;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- плазма-калибратор («Мультитех-калибратор» кат. № 773, производитель ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора

ви, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование - сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Подготовка Техпластина

Техпластин в составе набора находится в жидком состоянии и готов к использованию.

Перед проведением исследования один из флаконов с Техпластином необходимо встряхнуть и прогреть при температуре +37 °C не менее 10 мин.

1.2. Получение плазмы-калибратора

Плазма-калибратор в состав набора не входит. Для получения калибровочных значений протромбинового времени пригоден один из двух, представленных ниже вариантов:

Вариант 1. Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равных пропорциях.

Вариант 2. Во флакон с «Мультитех-калибратором» (кат. № 773) внести 1,0 мл дистиллированной воды растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Определение протромбинового времени в плазме-калибраторе.

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл плазмы-калибратора.

2. Инкубировать при температуре +37 °C в течение 1 мин.

3. Добавить 0,2 мл раствора Техпластина, имеющего температуру +37 °C и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

Аналогично определить протромбиновое время в образцах плазмы пациентов.

Число определений может отличаться для разных конструкций коагулометров.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результат выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают протромбиновое время (ПВ) в секундах у пациента с указанием значений, полученных при исследовании плазмы-калибратора.

В норме протромбиновое время, измеренное на коагулометре, составляет 12-18 с, при ручной технике определения - 13-19 с.

2. Рассчитывают протромбиновое отношение (ПО) по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ \text{ пациента}}{ПВ \text{ плазмы} - \text{калибратора}}$$

В норме ПО составляет 0,9-1,3.

3. Определяют протромбиновый показатель по Квику (см. раздел «Определение протромбинового показателя по Квику»). В норме протромбиновый показатель по Квику при использовании Техпластина - более 60 %.

4. При контроле за непрямыми антикоагулянтами определяют международное нормализованное отношение (МНО), исходя из ПО и международного индекса чувствительности (МИЧ), который указан в паспорте к набору.

Последовательность расчета:

А) $ПО = \frac{ПВ \text{ пациента}}{ПВ \text{ плазмы} - \text{калибратора}}$

Б) $МНО = ПО^{МИЧ}$

Пример: ПВ плазмы больного, получающего непрямые антикоагулянты - 45 с; ПВ плазмы-калибратора - 15 с; МИЧ = 1,2.

В этом случае $МНО = ПО^{МИЧ} = (45:15)^{1,2} = 3,00^{1,2} = 3,74$.

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

Таблица пересчёта ПО в МНО представлена в паспорте к набору.

4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТРОМБИНОВОГО ПОКАЗАТЕЛЯ ПО КВИКУ

4.1. Принцип. Протромбиновый показатель по Квику характеризует активность факторов протромбинового комплекса, выраженную в %. Его определяют по калибровочному графику, который строят путем измерения протромбинового времени свертывания в разведениях нормальной плазмы, приготовленной при смешивании 3-5 образцов бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей. Показатель по Квику в такой плазме принимают за 100 %.

Построение калибровочной кривой. Подавляющее большинство коагулометров способно построить калибровочный график и сохранить его в электронной памяти. Однако при ручной технике выполнения готовят разведения нормальной плазмы в физиологическом (0,9 %) растворе натрия хлорида в соответствии с представленной ниже таблицей.

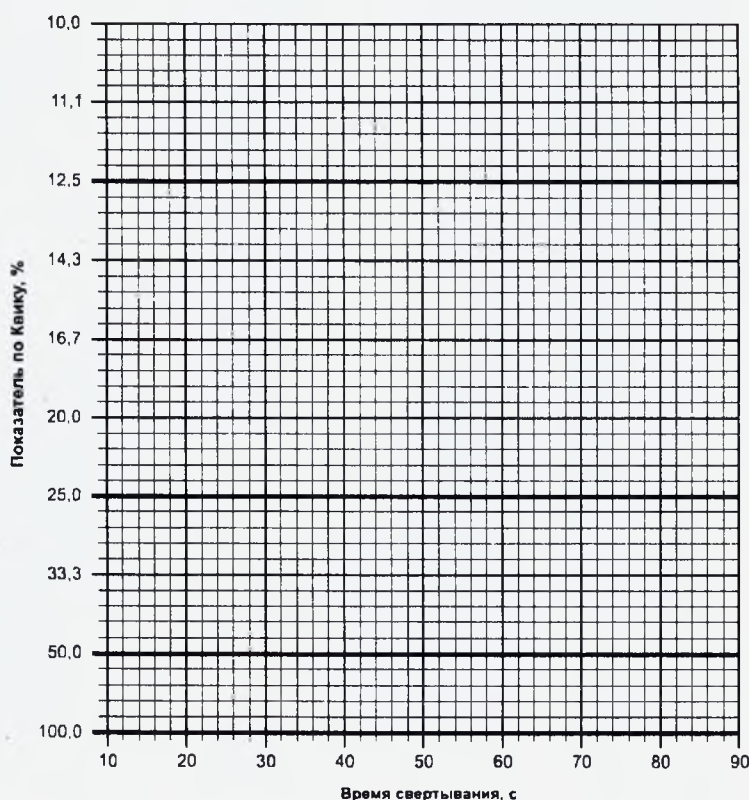
Приготовление калибровочных разведений контрольной плазмы

Номер пробы	Контрольная плазма и ее разведения	Физиологический раствор	Разведение	Протромбин нормальной плазмы, %
1	0,25 мл	+ 0,0 мл	-	100
2	0,25 мл	+ 0,25 мл	1 + 1	50
3	0,25 мл пробы 2	+ 0,25 мл	1 + 3	25
4	0,25 мл пробы 3	+ 0,25 мл	1 + 7	12,5

С каждой пробой (№ 1-4) дважды определяют протромбиновое время, как описано выше (см. раздел «Проведение анализа»). Полученные средние значения (в с) наносят на горизонтальную ось калибровочной сетки. На вертикальную ось этой сетки наносят значения протромбина в разведениях нормальной плазмы (100, 50, 25 и 12,5 %). Через полученные на пересечениях точки проводят калибровочную линию.

Определение протромбинового показателя по Квику. Определяют протромбиновое время в плазме пациента как описано выше (см. раздел «Проведение анализа»). Подавляющее большинство коагулометров способно вычислить протромбиновый показатель по Квику (в %), однако при мануальной технике выполнения его определяют по калибровочному графику.

Координатная сетка для построения калибровочного графика



5. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества рекомендуется использовать реагент с нормальным диапазоном значений «Техноклот Н» (кат. № 774), а также реагент с патологическим диапазоном значений «Техноклот П» (кат. № 775).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) в комплектации № 1 рассчитан на исследование 400 образцов плазмы при использовании автоматических и полуавтоматических коагулометров (при расходе жидкого Техпластина по 0,1 мл на 1 анализ). При использовании ряда автоматических и полуавтоматических коагулометров (при расходе жидкого Техпластина по 0,05 мл на 1 анализ) число определений может быть увеличено до 800. С другой стороны, при использовании мануальной техники определений и ряда полуавтоматических коагулометров (при расходе жидкого Техпластина по 0,2 мл на 1 анализ) число определений снижается до 200.

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) в комплектации № 2 рассчитан на исследование 1000 образцов плазмы при использовании большинства автоматических и полуавтоматических коагулометров (при расходе жидкого Техпластина по 0,1 мл на 1 анализ). При использовании некоторых коагулометров (при расходе жидкого Техпластина по 0,05 мл на 1 анализ) число определений увеличивается до 2000.

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) необходимо хранить при температуре $+2... +8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности набора (18 мес.) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, а также однократное замораживание.

После вскрытия флакона жидкий Техпластин можно использовать при температуре $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ не более суток, комнатной температуре ($+18... +25\text{ }^{\circ}\text{C}$) - не более 7 суток или не более 30 суток - при температуре $+2... +8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Пул свежеполученной плазмы хранить при комнатной температуре ($+18... +25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не более 3 ч.

Не следует смешивать реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

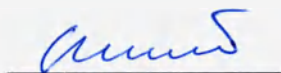
Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества «Набора реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест)», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

Составители:

Директор ООО фирмы

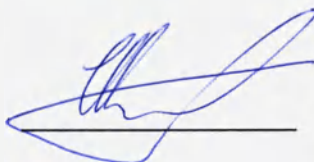
«Технология-Стандарт» д.м.н., проф.



А.П. Момот

Зам. директора ООО фирмы

«Технология-Стандарт» д.м.н., проф.



И.И. Шахматов

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«10» 25 2016 г.



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ
«10» 05 2016 год



Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ – МЕДЦЕНТР»
П.К. Варнавичус

