

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
Акционерного общества
«ДИАКОН-ДС»

Смирнов А.В.

« 15 » июня 2015 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения Протромбинового времени
в плазме крови
(ТРОМБОПЛАСТИН лиофилизированный ДДС)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов, предназначенный для определения Протромбинового времени (ПВ), отражающего активности факторов протромбинового комплекса, функции печени, дефицита витамина К и для оценки эффективности лечебного действия пероральных антикоагулянтов методом регистрации времени фибринообразования в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Время теста увеличивается для пациентов с врожденными или приобретенными заболеваниями, сопровождающимися снижением активности факторов I, II, V, VII и X. Протромбиновое время также увеличивается в случаях употребления оральных антикоагулянтов, поскольку оральные антикоагулянты подавляют активность витамин-К зависимых факторов свертывания крови (II, VII, IX, X, Протеин С и Протеин S). Тест на Протромбиновое время используется и для качественной оценки активности факторов свертывания II, V, VII и X.

Набор реагентов выпускается в двух видах фасовки и рассчитан на проведение 100/200, 200/400 определений при расходе 200/100 мкл реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

К исследуемой плазме добавляют в избытке раствор тканевого тромбопластина, содержащего ионы Ca^{2+} . Далее регистрируют время образования сгустка фибрина, которое в данных условиях зависит только от активности факторов внешнего и общего пути коагуляции: I, II, V, VII, X.

СОСТАВ

Комплектация I:

Тромбопластин лиофилизированный, аттестованный по МИЧ - 10 флаконов (по 4,0 мл).

Комплектация II:

Тромбопластин лиофилизированный, аттестованный по МИЧ - 5 флаконов (по 4,0 мл);

Раствор для разведения, содержащий 5% Трис - 5 флаконов (по 4,0 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов может использоваться при ручных, полуавтоматических и автоматиче-

ских способах детекции образования сгустка. Более детальное описание представлено в инструкциях к приборам.

Точность определения Протромбинового времени зависит от метода проведения анализа (ручной, полуавтоматический, автоматический режимы). Набор реагентов обеспечивает область определения нормальных значений Протромбинового времени в диапазоне от 10 до 15 сек. Значение МИЧ тромбопластина находится в диапазоне 0,98-1,2. Чувствительность реагента составляет не более 12,5 % по Квику. Зона линейности измерений ПВ лежит в диапазоне 25 – 100 % по Квику. Коэффициент вариации результатов не более 10%.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества рекомендуется проводить измерения контрольных плазм Control Plasma N, производство Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Германия, кат.№ ORKE41 и Control Plasma P, производитель Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Германия, кат.№ OUPZ17.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

ОБРАЗЦЫ

Для получения исследуемой плазмы для анализов необходимо взять венозную кровь на 3,8% (0,11 M) цитрате натрия (9:1), немедленно центрифугировать цитратную кровь при 3000 об/мин в течение 10 мин, сразу же перенести плазму в пластиковую или силиконированную стеклянную пробирку. Анализировать в течение 4 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре $-18-20^{\circ}\text{C}$ и хранение в течение одного месяца.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Набор предназначен только для «in vitro» исследований!

Задержка процедуры определения и ошибки при заборе образцов могут привести к разбросу результатов или ложному увеличению времени образования сгустка, поэтому очень важен строгий контроль за предварительной обработкой образцов.

При подготовке материала:

1. Используйте только пластиковые пробирки. Использование стеклянной посуды недопустимо.
2. Избегайте задержки смешивания забранной крови с антикоагулянтом.
3. Не используйте гемолизированные или липемические образцы.
4. Избегайте контаминации тканевым тромбопластином.
5. Строго соблюдайте соотношение объемов крови и антикоагулянта.

При проведении измерений:

1. Выполняйте измерение только при 37°C .
2. Используйте только дистиллированную воду высокой очистки.
3. Соблюдайте оптимальный pH 7,0-7,5.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения реагента – класс 2a (Приказ Минздрава РФ от 06.06.2012 № 4н).

Меры предосторожности – соблюдение “Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения” (Москва, 1981 г.).

При работе с реагентом следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, и обязательно длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой будитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Для разведения стандартной плазмы при построении калибровочной кривой необходим физиологический раствор (0,9% раствор хлорида натрия).
- Коагулометр автоматический или полуавтоматический; для ручного метода - термобаня и секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости от 10 до 1000 мкл;
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

В Тромбопластин лиофилизированный внести 4 мл дистиллированной воды или 4 мл буферного раствора, содержащего 5% Трис. Растворить Тромбопластин мягкими круговыми движениями флакона. Перед использованием жидкий Тромбопластин прогреть до 37 °С в течение не менее 10 мин.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах*, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Плазма исследуемая (контрольная)	100 мкл
Инкубировать при 37°С 3 мин.	
Тромбопластин жидкий	200 мкл
Зафиксировать время свертывания в сек. **	

* Количества смешиваемых компонентов могут быть изменены при условии сохранения пропорции смешивания (1:2).

** В зависимости от используемого метода определения (ручного или автоматизированного) и типа коагулометра (полуавтоматический или автоматический, оптический или механический) результаты измерений нормальной плазмы могут отличаться в пределах 10%.

РАСЧЕТЫ

Активность ПВ имеет несколько единиц выражения:

- в **секундах** времени свертывания плазмы,
- через **ПВ индекс (%)**, вычисляемый как отношение времени Тн (сек) свертывания контрольной нормальной плазмы ко времени Ти (сек) свертывания исследуемой плазмы, умноженное на 100%:

$$\text{ПВ индекс (\%)} = (\text{Тн} / \text{Ти}) \times 100.$$

- через **ПВ отношение**, вычисляемое как отношение времени Ти (сек) свертывания исследуемой плазмы ко времени Тн (сек) свертывания контрольной нормальной плазмы:

$$\text{ПВ отношение} = \text{Ти} / \text{Тн}.$$

- через **% Протромбина по Квику**, определяемый с помощью калибровочной кривой зависимости времени свертывания плазмы от процентного содержания Протромбина.

Готовят ряд разведений контрольной плазмы физиологическим раствором по следующей схеме (точные значения протромбина в % указываются в паспорте на плазму).

Протромбин по Квику в контрольной плазме в %	A*%	0.5A%	0.25A%
Контрольная плазма	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл
Физиологический раствор	-	0,5 мл	1,5 мл

*А – аттестованное значение протромбина по Квику (%) в контрольной плазме.

Для каждого разведения контрольной плазмы определяют протромбиновое время (ПВ) в секундах и наносят полученные значения на координатную сетку (см. оборот). Строят калибровочный график зависимости ПВ от процента протромбина по Квику. Затем определяют ПВ в исследуемых образцах и по графику рассчитывают процент протромбина по Квику. Образцы с высоким уровнем протромбина по Квику могут выйти за пределы линейности, что приводит к искажению результатов. Поэтому точные значения активности протромбина по Квику для таких образцов могут быть получены при разведении исследуемой плазмы физиологическим раствором в 2 раза. При этом результат, считанный из калибровочного графика, должен быть умножен на 2.

Для удобства работы на график нанесена также вторая ось (Y) с величинами, обратными значению протромбина (1/протромбин в %) и таблица пересчета обратных величин.

- через **Международное Нормализованное Отношение** или **МНО**, рекомендованное Международным Комитетом по Стандартизации Гематологических исследований и Международным Комитетом по Тромбозам и Гемостазу. МНО рассчитывается по формуле:

$$\text{МНО} = \text{ПО}^{\text{МИЧ}}$$

где: МИЧ – Международный Индекс Чувствительности тромбопластина, указан в прилагаемом паспорте.

Таблица пересчета протромбинового отношения в МНО приведена в прилагаемом паспорте на данную серию тромбопластина.

ПО - протромбиновое отношение, рассчитывается как:

$$\text{ПО} = \text{ПВ}_\text{и} / \text{ПВ}_\text{н}$$

где: $\text{ПВ}_\text{и}$ – протромбиновое время плазмы пациента в секундах;

$\text{ПВ}_\text{н}$ – протромбиновое время контрольной нормальной плазмы в секундах.

Значение МИЧ специфично для каждой серии реагента (ТРОМБОПЛАСТИН лиофилизированный ДДС) и указывается на упаковке.

ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Транспортирование и хранение Набора реагентов должно производиться при температуре 2-8 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается транспортирование и хранение Набора реагентов при температуре до 25°С не более 7 суток. Замораживание не допускается.

Срок годности реагента - 12 месяцев.

Избегать загрязнения плазмой!

Набор реагентов после вскрытия флаконов может храниться при температуре 2-8°С в темном месте в течение 10 суток при условии достаточной герметичности флакона и отсутствии загрязнения.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

АО «ДИАКОН-ДС» гарантирует качество, эффективность и безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании Калибратора по назначению в условиях, предусмотренных данной инструкцией по применению.

Гарантийные обязательства АО «ДИАКОН-ДС» распространяются с даты изготовления и на период срока годности медицинского изделия, при условии надлежащего транспортирования, хранения и эксплуатации.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Набор реагентов ТРОМБОПЛАСТИН лиофилизированный ДДС предназначен для применения в клинико-диагностических лабораториях. При работе с Набором реагентов следует строго соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Утилизацию или уничтожение неиспользованных реактивов, дезинфекцию реагента сле-

дует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов **ТРОМБОПЛАСТИН** лиофилизированный ДДС, следует обращаться в АО «ДИАКОН-ДС» по адресу: 142290, г. Пущино, Московской обл., Ул. Грузовая 1а; тел. (495) 980-63-38, т/факс (495) 980-66-79.

Ведущий специалист по развитию бизнеса
АО «ДИАКОН-ДС»

к.б.н. В.А.Фунт

«СОГЛАСОВАНО»

Зам. руководителя испытательного
лабораторного центра ФГБУН НИИ
ФХМ ФМБА России



к.м.н. А.К. Мартынов

« 01 » июля 2015 г.

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 5 листов
Специалист по регистрации и сертификации
АО «ДИАКОН-ДС»



Л.А. Гуськова