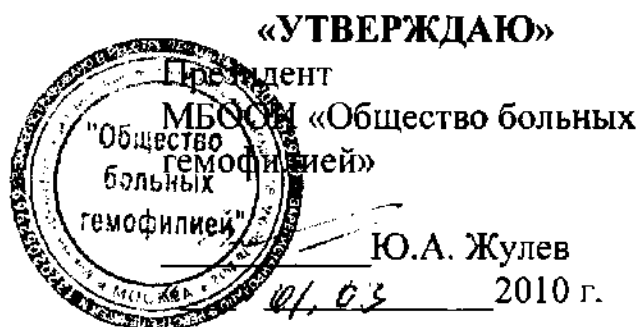


УТВЕРЖДЕНА
приказом Росздравнадзора
от «___» _____ 2010 г.
№ _____



ИНСТРУКЦИЯ
по применению Тромбопластина (из головного мозга кролика)
для определения протромбинового времени
(Ренампластин)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент Ренампластин, содержащий тромбопластин мозговой ткани кролика и ионы кальция, предназначен для определения протромбинового времени (ПВ) в плазме крови человека для анализа активности факторов протромбинового комплекса, для исследования функций печени и для оценки эффективности лечебного действия пероральных антикоагулянтов. МИЧ (Международный Индекс Чувствительности) Ренампластина равен 1,0-1,3.

Один флакон с реагентом предназначен для проведения 40 макро- или 80 микроанализов при расходе по 0,2 мл или 0,1 мл раствора реагента на одно определение, соответственно.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

При добавления к цитратной плазме крови ионов кальция и избытка тканевого тромбопластина время образования сгустка фибрина зависит только от активности факторов протромбинового комплекса (факторов внешнего пути коагуляции): II, V, VII, X. Определяется время от добавления к исследуемой плазме Ренампластина до образования сгустка фибрина. Снижение концентрации факторов протромбинового комплекса сопровождается удлинением времени свертывания плазмы крови.

2.2. Состав комплекта реагента

В комплект поставки входят 1, 3, 6 или 10 флаконов лиофилизованного Ренампластина.

Смирнов
01.03.10г.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Реагент Ренампластин разработан для тестирования *in vitro* внешнего пути процесса свертывания крови, в котором функцию тканевого фактора и фосфолипидов несет лиофилизированный экстракт мозговой ткани кролика тромбопластин, к которому добавлены ионы кальция. При добавлении к исследуемой плазме крови человека Ренампластина образуется сгусток фибрина, время образования которого зависит от активности содержащихся в плазме факторов свертывания крови (II, V, VII, X). Реакция стандартизуется проведением процесса при постоянной температуре (37°C).

Результаты определения протромбинового времени (ПВ) принято выражать в виде протромбинового отношения (ПО), протромбинового индекса (ПИ), протромбина в % от нормы по Квику, %, и в виде МНО – Международного нормализованного отношения, усл. ед.

$MHO = PO^{MIC}$, где МИЧ – Международный индекс чувствительности тромбопластина.

Определение ПВ по методу Квика до настоящего времени является важнейшим тестом, который применяется для установления дозы пероральных антикоагулянтов при терапии тромбозов. Ошибка анализа может привести к недостаточности терапии или к тяжелой геморрагии. Трудности анализа связаны с использованием тромбопластинов, варьирующих по источнику получения, способу приготовления и чувствительности. В 1983 г ВОЗ была принята модель калибровки тромбопластинов в системе МИЧ/МНО, основанная на линейности логарифмов ПВ, полученных с 2 тромбопластинами, одним из которых является эталон ВОЗ с МИЧ 1,0.

МИЧ Ренампластина 1,0-1,3.

Допустимое отклонение МИЧ от аттестованного значения не более 5%, коэффициент вариации и межфлаконная вариация определения МИЧ – не более 5%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения реагента – класс 2а.

4.2. При работе с реагентом следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

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

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ:

- Коагулометр с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная медицинская, развивающая ускорение 1500 g;
- пилетки полуавтоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,1; 0,2; 1,0 мл;
- пробирки стеклянные силиконизированные или пластиковые вместимостью 10 мл;
- вода дистиллированная;
- 38% раствор натрия лимоннокислого (цитрата);
- контрольная нормальная плазма, бедная тромбоцитами, с аттестованной активностью протромбина по Квику;
- 0,9% раствор натрия хлористого;
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Приготовить 3,8% раствор цитрата разведением в 10 раз концентрированного 38% раствора.

Венозную кровь отобрать в силиконизированную стеклянную или пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1, центрифугировать в течение 7 мин при 1000 об/мин (240 g), плазму перенести в другую пробирку и повторно центрифугировать в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Время хранения образцов плазмы при комнатной температуре (18-25°C) - не более 4 ч, не допускается хранение образцов при температуре 2-8°C в связи с возможностью холодовой активации фактора VII. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 20°C.

Клинико-диагностическим лабораториям, использующим в качестве контроля свежий пул донорской плазмы, имеющий 100% активность протромбина, пул донорской плазмы из каждой дозы крови приготовить аналогичным образом путем двойного центрифугирования.

Полученный пул необходимо разлить в пластиковые пробирки и быстро заморозить при температуре минус 20°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

7.1. Приготовление раствора Ренампластина

В один флакон с Ренампластином внести 8,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при покачивании. Перед проведением анализа раствор Ренампластина прогреть при температуре 37°C в течение 30 мин.

7.2. Стабильность Ренампластина

Температура	37°C	18-25°C	2-8°C	Минус 18-20°C
Время хранения	8 ч	2 сут	7 сут	3 мес

7.3. Ход анализа

Внести в кювету коагулометра:	Объем
Плазма исследуемая (контрольная)	0,1 мл
Инкубировать при температуре 37°C точно 2 мин.	
Ренампластин	0,2 мл
Зафиксировать время свертывания, сек.	

7.4. Чувствительность Ренампластина к гепарину

Ренампластин не чувствителен к гепарину в дозе до 1,0 МЕ/мл, что позволяет использовать данный реагент при гепаринотерапии.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрируют время свертывания исследуемой плазмы, сек, после добавления раствора Ренампластина.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Полученные результаты определения ПВ, сек, принято представлять в виде протромбинового отношения (ПО), протромбинового индекса (ПИ),%, протромбина в % от нормы по Квику, %, МНО.

9.1. Протромбиновое Отношение (ПО).

$$ПО = \frac{ПВ_{П}}{ПВ_{100\%}},$$

где: ПВ_П – протромбиновое время плазмы крови пациента, сек.

ПВ_{100%} – протромбиновое время 100% свежего пула донорской плазмы, сек.

Клинико-диагностическим лабораториям рекомендуется использовать для определения значения ПВ_{100%} контрольную плазму НПО РЕНАМ. При этом значение ПВ_{100%} рассчитать по формуле:

$$ПВ_{100\%} = \frac{ПВ_{К}}{ПО_{К}},$$

где: ПВ_К – протромбиновое время контрольной плазмы (определить одновременно с исследуемым образцом).

ПО_К – протромбиновое отношение контрольной плазмы (указано в паспорте на плазму, не входит в состав набора).

Значение ПВ_{100%} рекомендуется внести в компьютеры современных моделей коагулометров для автоматического расчета ПО.

9.2. Протромбиновый индекс (ПИ).

$$\text{ПИ}_{\text{п}} = \frac{\text{ПВ}_{100\%}}{\text{ПВ}_{\text{п}}} \times 100,$$

где: $\text{ПВ}_{100\%}$ - протромбиновое время 100% свежего пула донорской плазмы, сек.

$\text{ПВ}_{\text{п}}$ – протромбиновое время плазмы пациента, сек.

9.3. Протромбин в % от нормы по Квику.

Приготовить ряд разведений контрольной нормальной плазмы в 0,9% растворе натрия хлористого по следующей схеме:

Протромбин по Квику в контрольной плазме, %	A*%	0,5 A%	0,25 A%
Контрольная плазма	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл
0,9% раствор натрия хлористого	-	0,5 мл	1,5 мл

*A – аттестованное значение протромбина по Квику (%) в контрольной плазме, указано в паспорте на плазму.

Для каждого разведения контрольной нормальной плазмы определить ПВ, сек, и нанести полученные значения на горизонтальную ось абсцисс (X). На вертикальную ось ординат (Y) нанести значения активности протромбина по Квику, %. Построить калибровочный график зависимости ПВ от активности протромбина по Квику, %. Затем по графику определить ПВ в исследуемых образцах в % от нормы по Квику.

Образцы с высокой активностью 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 0,9% раствором натрия хлористого в 2 раза. Результат, полученный по калибровочному графику, умножить на 2.

Для удобства работы на график нанести вторую ось (Y) с величинами, обратными значению протромбина (1/протромбин, %) и таблицу пересчета обратных величин.

9.4. МНО.МНО = ПО^{мич}**Терапевтическая область МНО**

Показания	Рекомендуемая терапевтическая область МНО	Протромбин в % от нормы по Квику
Тромбоз глубоких вен Легочная эмболия Инфаркт миокарда	2,0 – 3,0	50 - 30
Искусственные клапаны сердца Рекуррентная системная эмболия	3,0 – 4,5 или 2,5 – 3,5	30 – 20 или 35 - 25

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение реагента должно проводиться при температуре 2-8° С в течение всего срока годности - 24 мес. Допускается хранение набора при температуре до 25° С не более 10 сут.

Замораживание реагента допускается.

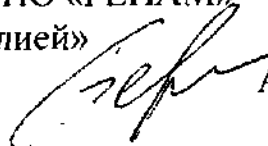
Раствор Ренапластина можно хранить при комнатной температуре (18-25°С) не более 2 сут, при температуре 2-8° С не более 7 сут или в замороженном состоянии при температуре минус 18-20°С не более 3 мес.

Плазму, отделенную немедленно после взятия крови, анализировать не позднее 4 ч после сбора крови.

По вопросам, касающимся качества реагента Ренампластин, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу:

125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4а, Гематологический научный центр РАМН, тел/факс (499) 614-90-57, e-mail: renam@blood.ru
и в Лабораторный Центр ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:
117241, г. Москва, Научный проезд, д. 14 а, тел.: (499) 120-60-96.

Заведующий отделом производства НПО «РЕНАМ»
МБООИ «Общество больных гемофилией»
кандидат биологических наук

 А.Л.Берковский

Научный руководитель лаборатории
клинической коагулологии
ГНЦ РАМН
доктор медицинских наук

 С.А.Васильев