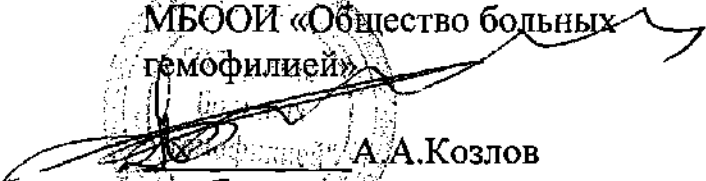


УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от « » 2007 г.
№

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор НПО «РЕНАМ»
МБООИ «Общество больных
гемофилией»

А.А.Козлов
«05» 03 2007 г..

ИНСТРУКЦИЯ
по применению Набора реагентов для определения протромбинового времени, протромбинового отношения, протромбинового индекса, протромбина по Квику и МНО в капиллярной крови («Диакан-Н»)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Диакан-П» предназначен для выявления в капиллярной крови коагуляционных нарушений во внешнем пути свертывания, для оценки функций печени и для контроля лечения тромбозов антикоагулянтами непрямого действия.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Измеряют время от момента добавления к капиллярной крови или плазме тромбопластина с кальцием до момента образования фибринового сгустка.

2.2. Состав набора

1. Ренампластин, лиофильно высушенный тромбопластиновый реагент из мозга кроликов с добавлением кальция - 9 фл.
2. Консервант для капиллярной крови, концентрат (5,0 мл) - 1 фл.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

В нормальной плазме здоровых лиц активность Ренампластина - в пределах 12-18 сек, протромбин по Квику – 70 – 130%, Международное Нормализованное Отношение (МНО) – 0,8 – 1,2, протромбиновый индекс – 80 – 120%.

Чувствительность Ренампластина – не менее 12,5 %.

В тесте на «линейность» в диапазоне от 100 до 25 %, отклонение не более 10%.

Допустимое отклонение активности Ренампластина от аттестованного значения - не более 10%.

Международный индекс чувствительности (МИЧ) Ренампластина в пределах 1,1-1,2.

Коэффициент вариации результатов определения - не более 10%.

Набор предназначен для диагностики нарушений функциональной активности печени, наблюдения за результатами лечения и профилактики системных тромбоэмболий, венозных тромбозов и тромбоэмболий легочной артерии, инфаркта миокарда, состояния при протезировании клапанов сердца с применением пероральных антикоагулянтов типа кумарина.

При лечении непрямыми антикоагулянтами оптимум достигается при следующих значениях МНО или протромбина по Квику:

Показания к применению не прямых антикоагулянтов	Рекомендуемая терапевтическая область МНО	Протромбин по Квику (Ренампластин), %
Тромбоз глубоких вен Легочная эмболия Инфаркт миокарда	2,0–3,0	50-30
Искусственные клапаны сердца Рекурентная системная эмболия	3,0–4,5 или 2,5–3,5	30–20 или 35-25

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека, для работы с которыми предназначен данный набор, следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- анализатор крови коагулометрический с набором пластиковых пробирок и кювет;
- водяная баня, поддерживающая температуру $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие отбирать объемы жидкости 50 и 100 мкл;
- перчатки резиновые хирургические;
- вода дистиллированная;
- Плазма контрольная (пул здоровых доноров) («Плазма Н») (ТУ 9398-001-48519197-2007);
- пробирки пластиковые или стеклянные силиконизированные;
- бумага масштабнo-координатная Н 1;
- 0,9% раствор натрия хлористого.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Использовать только пластиковые или силиконизированные стеклянные пробирки.

1. Капиллярная кровь (КК).

Капилляром (объемом не менее 100 мкл) отобрать до метки рабочий раствор консерванта и перенести его в пробирку. После обработки мякоти пальца спиртом сделать прокол скарификатором. Удалить первую каплю крови ватным тампоном. Затем свободно выступающие капли крови отобрать тем же капилляром до той же метки, что и консервант. Кровь перенести в пробирку с консервантом и перемешать пипетированием. Соотношение кровь:консервант = 1:1.

До проведения анализа исследуемый материал можно хранить при комнатной температуре (18-25°C) в течение 8 ч.

2. Плазма венозной крови (П).

Для клинико-диагностических лабораторий, использующих в качестве контроля свежий пул донорской плазмы, необходимо приготовить материал для исследования по следующей схеме:

венозную кровь взять на 3,8% (0,11 М) цитрате натрия (9:1), немедленно центрифугировать цитратную кровь при 3000 об/мин (1200 g) в течение 10 мин, сразу же перенести плазму в пробирку. Анализировать в течение 4 ч. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18-20°C и хранение при этой температуре в течение одного месяца.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление и стабильность реагентов

1. Ренампластин. Внести во флакон с лиофильно высушенным Ренампластином 4,0 мл дистиллированной воды и растворить при покачивании.

Перед проведением анализа раствор Ренампластина прогреть при температуре 37°C в течении 30 мин.

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

Стабильность Ренампластина после растворения:

18-22°C	2-8°C	Минус 18-20°C
2 дня	7 дней	3 мес

2. Рабочий раствор консерванта для взятия капиллярной крови. Концентрат консерванта для взятия капиллярной крови развести дистиллированной водой в 10 раз (1,0 мл концентрата + 9,0 мл дистиллированной воды). Хранить при температуре 2-8°C не более 1 мес. Рекомендуется готовить в день проведения анализа.

7.2. Проведение анализа

Внести в кювету анализатора или в пробирку	
Капиллярная кровь (КК)	Плазма венозной крови (П)
75 мкл	50 мкл
Инкубировать при температуре 37°C точно 2 мин.	
Внести Ренампластин, прогретый при температуре 37°C	
50 мкл	100 мкл
Зафиксировать время свертывания на коагулологическом анализаторе или с помощью секундомера.	

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты анализа регистрируют по времени образования сгустка фибрина (протромбиновое время) в сек с помощью секундомера или таймера коагулометра.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Результат реакции выражают как протромбиновое время (сек), в % активности по Квику, в единицах МНО (Международного нормализованного отношения) и как протромбиновый индекс.

9.1. Протромбиновое время (ПВ) в сек определяют непосредственно из результатов анализа.

9.2. Для определения протромбина по Квику в исследуемой капиллярной крови необходимо в качестве калибратора использовать плазму контрольную с известным содержанием протромбина по Квику, %, например Плазму Н.

Построить калибровочный график зависимости продолжительности протромбинового времени (сек) от содержания протромбина по Квику (%).

Для этого развести контрольную плазму физиологическим раствором по следующей схеме (точные значения содержания протромбина (А) указывают в паспорте на контрольную плазму):

Протромбин контрольной плазмы, %	А	0,5 А	0,25 А
Контрольная плазма, мл	0,5	0,5	0,5
0,9% раствор натрия хлористого, мл	-	0,5	1,5

Для каждого разведения контрольной плазмы необходимо определить ПВ, сек, и нанести полученные значения на миллиметровую бумагу - на горизонтальную ось абсцисс (Х). На вертикальную ось ординат (У) нанести разведения плазмы - калибратора, %. Через полученные на пересечении точки провести калибровочный график, который должен представлять собой прямую линию. Для удобства работы на график нанесена также вторая ось (У) с величинами, обратными значению протромбина (1/% протромбина) и таблица пересчета обратных величин.

В исследуемой капиллярной крови измерить ПВ и по калибровочному графику определить величину, обратную % протромбина (1/% протромбина). По таблице перевести полученное значение в % протромбина по Квику. Если PB_{KK} короче, чем ПВ неразбавленной контрольной плазмы, необходимо дополнительно развести капиллярную кровь 0,9% раствором натрия хлористого в 2 раза, а полученный после измерения результат умножить на 2.

9.3. Для выражения результатов в единицах МНО определяют протромбиновое отношение:

$$PO_{KK} = \frac{PB_{KK}}{PB_{П}} \times PO_{П} \times K_{Hct}, \text{ где:}$$

- PB_{KK} – протромбиновое время в капиллярной крови;
- $PB_{П}$ – протромбиновое время в контрольной плазме или в свежем пуле донорской плазмы (равно 1,0);
- $PO_{П}$ – протромбиновое отношение в контрольной плазме (указано в паспорте на плазму);
- K_{Hct} – коэффициент, учитывающий гематокрит исследуемой капиллярной крови (см. таблицу):

Гематокрит, %	15	20	30	35	40	45	50	60	70
K_{Hct}	1,2	1,15	1,19	1,07	1,02	1,00	0,98	0,94	0,89

$MHO_{KK} = PO_{KK}^{MICH}$, где:

- PO_{KK} – протромбиновое отношение в капиллярной крови;
- $MICH$ – Международный Индекс Чувствительности Ренампластина, указан в паспорте.

Таблица пересчета PO_{KK} в MHO приведена в прилагаемом паспорте.

9.4. Протромбиновый индекс определяют по формуле:

$$PI_{KK} = \frac{PB_{\Pi}}{PB_{KK}} \frac{PI_{\Pi}}{K_{Hct}} \times 100\%, \text{ где}$$

- PB_{Π} – протромбиновое время контрольной плазмы (не входит в состав набора) или свежего пула донорской плазмы;
- PB_{KK} – протромбиновое время капиллярной крови;
- K_{Hct} – коэффициент, учитывающий гематокрит исследуемой капиллярной крови;
- PI_{Π} – протромбиновый индекс нормальной донорской плазмы (указан в паспорте).

Заведующий отделом производства НПО «РЕНАМ»
кандидат биологических наук



А.Л.Берковский

Научный руководитель
лаборатории клинической коагулологии
ГУ ГНЦ РАМН
Профессор



С.А.Васильев

«СОГЛАСОВАНО»

Заместитель директора ГУ ГНЦ РАМН по научной работе
Директор НИИ переливания крови им. А.А.Богданова
Член-корр. РАМН В.М.Городецкий


«А» — 05
