

УТВЕРЖДЕНА
приказом Росздравнадзора
от «___» _____ 2013 г.
№ _____



«УТВЕРЖДАЮ»

Президент

МБООИ «Общество больных
гемофилией»

Ю.А. Жулёв

2013 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению Плазмы-калибратора для определения МНО
и протромбина по Квику
(Протромбин-калибратор)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент Протромбин-калибратор предназначен для определения среднего нормального протромбинового времени (ПВ_{100%}) при выражении результатов определения протромбинового времени (ПВ) в виде Международного нормализованного отношения (МНО), а также для построения калибровочного графика зависимости ПВ, сек, от протромбина по Квику, %.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения протромбина по Квику основан на построении калибровочного графика и должен выполняться в соответствии с инструкциями производителей наборов реагентов с учетом требований производителей анализаторов. По калибровочному графику определяют значение протромбина по Квику, %, в плазме крови пациента.

Среднее нормальное протромбиновое время (ПВ_{100%}), необходимое для выражения результатов определения ПВ в виде МНО, представляет собой среднее геометрическое результатов определения ПВ в плазмах не менее 20 здоровых доноров. ПВ_{100%} рассчитывают, определив величину ПВ в Протромбин-калибраторе и используя значение ПО, указанное в паспорте на Протромбин-калибратор.

2.2. Состав набора

Протромбин-калибратор, лиофильно высушенный – 1, 3 или 6 флаконов.

Протромбин-калибратор - пул плазмы, полученный от не менее 20 доноров в возрасте 20-40 лет, стабилизированный НЕРЕС-цитратным буфером, лиофильно высушенный и аттестованный против референсных сертифицированных плазм. Флаконы силиконированы для предотвращения контактной активации.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Растворимость лиофильно высушенного реагента в дистиллированной воде при комнатной температуре (18-25°C) не более 60 сек.

Активность протромбина по Квику реагента при анализе ПВ с Ренампластином в диапазоне 90-110%.

ПО реагента при анализе ПВ с Ренампластином в диапазоне 0,9-1,1.

Допустимое отклонение активности реагента от аттестованного значения ПО и протромбина по Квику – не более 10%.

Коэффициент вариации и межфлаконная вариация результатов определений - не более 10%.

Линейность определений протромбина по Квику – от 25 до 100%.

Точность определений – реагент аттестован по ПО и протромбину по Квику, %, против свежего пула донорской плазмы, протромбин по Квику в котором принят за 100%, или против референсных сертифицированных плазм ведущих мировых производителей с помощью тромбопластиновых реагентов, аттестованных по МИЧ.

Все расчеты проведены в соответствии с рекомендацией Clinical and Laboratory Standards Institute WHO (document H54-A, vol/ 25, N 23, Replaces H54-P, vol.24, N 30), 2005.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

При работе с реагентом следует соблюдать правила, описанные в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Инструкция утверждена Минздравом СССР в 1991 г.).

Каждая доза донорской крови, использованная для получения пула при изготовлении Протромбин-калибратора, проверена на отсутствие поверхностного антигена вируса гепатита В, на антитела к вирусу гепатита С, на антитела к ВИЧ 1 и к ВИЧ 2. Для получения пула использована только кровь, не содержащая этих агентов. Однако ввиду невозможности доказать их полное отсутствие плазма должна рассматриваться как потенциально инфицированная, способная сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В и С или любой другой возбудитель вирусной инфекции. При работе с исследуемыми образцами следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ:

- Коагулологический анализатор любого типа с набором кювет;
- наборы реагентов Ренампластин, Тромбопластин или Диагем П;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, 20-200 мкл, 100-1000 мкл;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% раствор натрия хлористого);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Раствор Протромбин-калибратора анализируют до проведения серии исследований плазмы пациентов.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Приготовление Протромбин-калибратора

Внести во флакон с Протромбин-калибратором 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор Протромбин-калибратора нужно выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течение 20 мин.

Проведение анализа

Для выражения результатов определения ПВ пациента в виде МНО измерить ПВ Протромбин-калибратора с использованием наборов реагентов Ренам-пластин, Тромбопластин или Диагем П по инструкциям, прилагаемым к наборам, далее провести математический расчет МНО (см. ниже).

Для определения протромбина по Квику Протромбин-калибратор развести физиологическим раствором следующим образом:

Протромбин по Квику в Протромбин-калибраторе, %	A*%	0,5 A %	0, 25 A %
Протромбин-калибратор, мл	0,5	0,5	0,5
Физиологический раствор, мл	-	0,5	1,5

*А – аттестованное значение протромбина по Квику, %, в Протромбин-калибраторе (указано в паспорте).

Далее определить время свертывания (ПВ), сек, каждого разведения Протромбин-калибратора согласно инструкции по применению соответствующих наборов реагентов и анализаторов.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить ПВ, сек, в Протромбин-калибраторе от момента добавления тромбопластина с кальцием до момента образования фибринового сгустка.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Построить калибровочный график зависимости ПВ, сек, (ось X) от величины, обратной протромбину по Квику, % (ось Y).

Для каждой серии наборов Протромбин-калибратора и тромбопластиновых реагентов должен быть построен свой калибровочный график.

Протромбин по Квику, %, в исследуемой плазме пациента определить по калибровочному графику.

МНО вычислить по формуле:

$$\text{МНО} = \left(\frac{\text{ПВ}_\text{п}}{\text{ПВ}_{100\%}} \right)^{\text{МИЧ}}$$

где: $\text{ПВ}_\text{п}$ – ПВ плазмы пациента, сек.

$\text{ПВ}_{100\%}$ – среднее нормальное ПВ, сек.

МИЧ – Международный Индекс Чувствительности, указанный в паспорте на тромбопластин.

Так как ПО Протромбин-калибратора ($\text{ПО}_{\text{пк}}$) равно:

$$ПО_{ПК} = \frac{ПВ_{ПК}}{ПВ_{100\%}}, \text{ то } ПВ_{100\%} = \frac{ПВ_{ПК}}{ПО_{ПК}}, \text{ а } МНО = \left(\frac{ПВ_{п}}{ПВ_{ПК}} \times ПО_{ПК} \right)^{МИЧ}$$

где: $ПВ_{ПК}$ – ПВ Протромбин-калибратора, сек.

$ПО_{ПК}$ – ПО Протромбин-калибратора для Ренампластина и Тромбопластина (указано в паспорте на Протромбин-калибратор).

Точные значения протромбина по Квику, %, и $ПО_{ПК}$ для Ренампластина и Тромбопластина указаны в паспорте на Протромбин-калибратор.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение набора должно проводиться при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора - 18 мес. Допускается хранение набора при температуре до 25°C в течение 10 сут.

Замораживание компонентов набора допускается.

Срок годности со дня изготовления лиофильно высушенного Протромбин-калибратора – 18 мес при условии хранения при температуре 2-8°C или при отрицательной температуре (что предпочтительнее).

Приготовленный раствор Протромбин-калибратора можно хранить во флаконе изготовителя:

- не более 4 ч при температуре 2-8°C
- не более 2 ч при комнатной температуре.
-

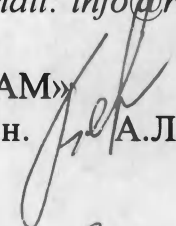
11. УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СП № 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с Протромбин-калибратором с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу опасности Б.

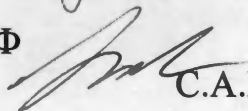
Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на $\frac{3}{4}$, завязывают, маркируют надписью: «Отходы. Класс Б», наносят на бирку название организации, дату и ФИО исполнителя и помещают на участок временного хранения до вывоза транспортом специального подразделения к месту обеззараживания и утилизации.

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

125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4, МБООИ «Общество больных гемофилией», тел/факс (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru

Заведующий отделом производства НПО «РЕНАМ»
МБООИ «Общество больных гемофилией», к.б.н.  А.Л.Берковский

Научный руководитель лаборатории
клинической коагулологии ФГБУ ГНЦ МЗ РФ
доктор медицинских наук

 С.А.Васильев

Пронумерованно
и прошнуровано
Президент МБОУ «Общество
больных гемофилией»
4 листов
Ю.А.Жулёв

