

## УТВЕРЖДЕНА

приказом Росздравнадзора  
от «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2011 г.  
№ \_\_\_\_\_

«УТВЕРЖДАЮ»

Президент  
МБООИ «Общество больных  
гемофилией»



Ю.А.Жулёв  
\_\_\_\_\_ 2011 г.

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению Реагента для определения  
протромбинового времени  
(«Тромбопластин»)

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент «Тромбопластин» предназначен для определения протромбинового времени - высокочувствительного и простого скринингового теста, который выявляет нарушения во внешнем пути свертывания крови (активность факторов II, V, VII и X) и рекомендуется для:

- диагностики наследственных и приобретенных коагулопатий;
- диагностики заболеваний печени.

Один флакон с реагентом предназначен для проведения 25 макро или 50 микро определений при расходе по 0,1 или 0,05 мл раствора реагента на одно определение.

### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТА

#### 2.1. Принцип действия

При добавлении к цитратной плазме избытка тканевого тромбопластина и ионов кальция время образования сгустка фибрина зависит только от активности факторов внешнего и общего пути коагуляции: I, II, V, VII, X.

Измеряют время от момента добавления к плазме тромбопластина в смеси с кальцием до момента образования фибринового сгустка.

#### 2.2. Состав комплекта реагента

Один комплект реагента содержит 3 или 10 флаконов с лиофильно высушенным тромбопластином.

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Тромбопластин выделен из головного мозга кроликов.

Реагент тромбопластин, аттестованный по МИЧ, в смеси с кальцием предназначен для определения протромбинового времени (ПВ, сек) в плазме венозной крови.

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

Результаты определения протромбинового времени (ПВ) принято выражать в виде:

- протромбинового отношения (ПО);
- протромбинового индекса (ПИ);
- протромбина в % от нормы по Квику, %;
- в виде МНО – Международного нормализованного отношения, усл. ед.

$\text{МНО} = \text{ПО}^{\text{МИЧ}}$ , 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 реагента Тромбопластин 1,2-1,5.

Нормальная область:

Протромбиновое время – 14–18 сек.

Протромбин по Квику – 70–130%.

Протромбиновое Отношение – 0,9–1,1.

Протромбиновый индекс – 90–105%.

#### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения реагента – класс 1.

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 любого типа с набором пластиковых кювет;
- водяная баня, поддерживающая температуру  $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ;
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение 1200 g;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие отбирать объемы жидкости 50 и 100 мкл;
- перчатки резиновые или пластиковые;

- вода дистиллированная;
- Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н);
- пробирки пластиковые или стеклянные силиконизированные;
- бумага масштабнo-координатная Н 1;
- 0,025 М раствор кальция хлористого;
- физиологический раствор (0,9% NaCl).

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Венозную кровь отобрать в силиконизированную стеклянную или пластиковую пробирку с 3,8% 5,5-водным (0,109 М) цитратом натрия (9:1) или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 2-водным (0,109 М) цитратом натрия.

Центрифугировать при комнатной температуре (18-25°C) 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 другую пластиковую пробирку.

Время хранения при комнатной температуре - не более 4 ч, не допускается хранение плазмы при температуре 2-8°C в связи с возможностью холодной активации фактора VII. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре - 20°C.

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

### 7.1. Приготовление реагента

Во флакон с тромбопластином внести 2,5 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при покачивании. Внести в тот же флакон 2,5 мл 0,025 М раствора кальция хлористого.

Стабильность полученной тромбопластин-кальциевой смеси (ТКС).

|         |       |          |
|---------|-------|----------|
| 18-25°C | 2-8°C | -18-20°C |
| 8 ч     | 5 сут | 3 мес    |

### 7.2. Ход анализа

Перед проведением анализа прогреть раствор ТКС при температуре 37°C в течение 30 мин.

|                                                 |         |
|-------------------------------------------------|---------|
| Внести в кювету анализатора:                    | Объем   |
| Плазма исследуемая (контрольная)                | 100 мкл |
| Инкубировать при температуре 37°C точно 1-2 мин |         |
| ТКС                                             | 200 мкл |
| Зафиксировать время свертывания, сек            |         |

## 8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

## 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<sub>П</sub> – протромбиновое время исследуемой плазмы пациента, сек.

ПВ<sub>100%</sub> – протромбиновое время 100% свежего пула донорской плазмы, сек.

Клинико-диагностическим лабораториям рекомендуется использовать для определения значения ПВ<sub>100%</sub> контрольную плазму НПО РЕНАМ. При этом значение ПВ<sub>100%</sub> рассчитать по формуле:

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

где: ПВ<sub>К</sub> – протромбиновое время контрольной плазмы (определить одновременно с исследуемым образцом).

ПО<sub>К</sub> – протромбиновое отношение контрольной плазмы (указано в паспорте на плазму, не входит в состав набора).

Значение ПВ<sub>100%</sub> рекомендуется внести в компьютеры современных моделей коагулометров для автоматического расчета ПО.

### 9.2. Протромбиновый индекс (ПИ).

$$ПИ_{П} = \frac{ПВ_{100\%}}{ПВ_{П}} \times 100,$$

где: ПВ<sub>100%</sub> – протромбиновое время 100% свежего пула донорской плазмы, сек.

ПВ<sub>П</sub> – 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  |

\*А – 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.

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

#### Терапевтическая область МНО

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

#### 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ РЕАГЕНТА

Хранение тромбопластина в упаковке предприятия-изготовителя должно проводиться при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение реагента при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание реагента допускается.

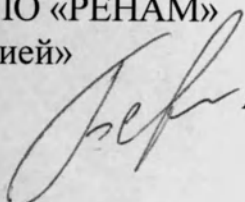
Срок годности реагента – 12 мес.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

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

125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4, ФГБУ ГНЦ Мин-  
здравсоцразвития России, тел/факс (495) 614-90-57, e-mail: [renam@blood.ru](mailto:renam@blood.ru)

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



Пронумеровано  
и прошнуровано 6 листов  
Президент МБОУ «Общество  
больных гемофилией»

Ю.А.Жулёв

