

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения протромбинового времени и расчета МНО в
плазме крови
(Протромбин ЛК)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения протромбинового времени и расчета МНО в плазме крови (Протромбин ЛК) (далее по тексту – набор) предназначен для определения времени, необходимого для формирования фибринового сгустка при добавлении к цитратной плазме тромбопластина с хлоридом кальция (ПВ), определения протромбина по Квику, расчета протромбинового отношения (ПО), протромбинового индекса (ПИ) и международного нормализованного отношения (МНО) в качестве вспомогательного средства диагностики.

1.2. Набор предназначен для полуавтоматических и автоматических коагулометров и ручного анализа.

1.3. Набор выпускается в двух вариантах комплектации:

Вариант комплектации	Фасовка	Количество определений	Расход на одно определение	Используемое оборудование
1	10 фл (P); 4×12 мл (PЗ); карта идентификационная	375	0,1 мл	Автоматический коагулометр Гематит (HEMATITE) S/M
2	10 фл (P); 4×12 мл (PЗ)	400	0,1 мл	Автоматический коагулометр
		200	0,2 мл	Полуавтоматический коагулометр, ручной анализ

Количество определений зависит от метода анализа и используемого коагулометра при сохранении соотношения образец : рабочий реагент.

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой, ст. научным сотрудником К.С. Бабиным и мл. научным сотрудником Н.С. Щербаковой

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Тканевой фактор и фосфолипиды в составе тромбопластина запускают внешний путь свертывания крови. Детекция коагуляции производится клоттинговым методом. Время образования фибринового сгустка при добавлении избытка тромбопластина с ионами кальция пропорционально активности плазматических факторов внешнего и общего пути свертывания крови в анализируемой цитратной плазме.

Для мониторинга действия непрямых антикоагулянтов используют показатель МНО.

2.2. Состав набора

В состав набора входят следующие компоненты:

- реагент (Р): тромбопластин кроличий с хлоридом кальция, содержащий натрия азид (0,05%), лиофилизированный;
- разбавитель (РЗ): раствор, содержащий натрия азид (0,05%);
- карта идентификационная (только в варианте комплектации 1).

Состав вариантов комплектации:

- 1) – реагент (Р) – 10 флаконов;
 - разбавитель (РЗ) – 4 флакона (по 12 мл);
 - карта идентификационная – 1 шт.
- 2) – реагент (Р) – 10 флаконов;
 - разбавитель (РЗ) – 4 флакона (по 12 мл).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1.* Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени – не более 10 %.

3.2.* Допустимое отклонение значений протромбинового времени в контрольной плазме нормального уровня от аттестованного значения – не более 10 %.

3.3. Показатели, измеренные в цитратной плазме 80 условно-здоровых людей обоих полов в возрасте 18-70 лет, находились в пределах:

Протромбиновое время (ПВ) – 10,0 – 16,0 сек;

МНО – 0,85–1,15;

Протромбиновое отношение (ПО) – 0,9–1,3;

Протромбиновый индекс, % (ПИ) – 90–105;

Протромбин по Квику, % – 70–130.

3.4. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин протромбинового времени у обследуемого контингента людей.

*по ГОСТ Р 51352-2013.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Набор реагентов предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3. Реагент и разбавитель содержат натрия азид (0,05%). При работе с набором следует избегать разбрызгивания и попадания компонентов набора на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть поражённое место большим количеством проточной воды.

4.4. При работе с исследуемыми образцами плазмы крови следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А, Б, В и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ:

- коагулометр любого типа, поддерживающий температуру жидкости в кювете в процессе анализа $37 \pm 0,5$ °C;
- дозаторы механические одноканальные переменного объема со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 100-1000 мкл и 1000-5000 мкл;
- водяная баня, поддерживающая температуру 37 °C (при ручном методе анализа);
- секундомер (при ручном методе анализа);
- пробирки пластиковые или стеклянные вместимостью 5,0-10 мл (при ручном методе анализа);
- раствор натрия хлорида 0,9 % для инъекций (для определения протромбина по Квику);

- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- дезинфицирующий раствор;
- контрольные плазмы нормального и патологического уровней («Контрольная плазма» уровень 1 и уровень 2 производства АО «Вектор-Бест»).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Цитратная плазма крови. Не использовать оксалатную, гепаринизированную или ЭДТА-плазму.

Образцы плазмы можно хранить при комнатной температуре от 18 до 26 °С не более 8 ч, при температуре -20 °С не более 1 мес, при температуре -70 °С не более 12 мес. Размораживание плазмы необходимо проводить при 37±0,5 °С не более 5 мин, затем хранить при комнатной температуре не более 4 часов. При температуре от 2 до 8°С хранить образцы плазмы не рекомендуется во избежание возможной холодовой активации ф. VII. Повторное замораживание образцов плазмы не допускается.

Для исследования допускается негемолизированная плазма без сгустков.

Присутствие в образцах плазмы крови гемоглобина до 12 г/л, триглицеридов до 25 г/л и билирубина до 0,3 г/л (5142 мкмоль/л) не оказывает значимого влияния на результаты определения продолжительности протромбинового времени с использованием набора реагентов «Протромбин ЛК».

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.1. Вариант комплектации 1.

7.1.1. Перед началом работы при помощи идентификационной карты обновите счетчик количества определений, как указано в Руководстве по эксплуатации анализатора автоматического коагуляции крови Гематит S/M.

7.2. Все варианты комплектации.

7.2.1. Приготовление рабочего реагента (РР). Выдержать флакон с реагентом при температуре от 18 до 26 °С в течение 30 мин, затем открыть, не допуская потери лиофилизированного материала. Внести во флакон 4 мл разбавителя. Аккуратно закрыть флакон и выдержать его не менее 15 мин, периодически осторожно перемешивая путем переворачивания и вращения флакона вручную, избегая образования пены, до полного растворения реагента.

Рабочий реагент (РР) можно хранить при температуре от 18 до 26°С не более 24 часов, при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте.

Разбавитель после вскрытия хранить при температуре 2-8°С в течение всего срока годности плотно закрытом виде.

7.2.2. Перед началом работы РР нагреть до температуры анализа 37°С и поддерживать ее на протяжении всего анализа.

7.2.3. Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Отмерить, мкл	Ручной метод, полуавтоматический коагулометр	Автоматический коагулометр <i>HEMATITE</i>
Плазма/контрольная плазма	100	50
Выдержать 1 мин при температуре 37°C.		
РР	200	100
После добавления РР измерить в анализируемой плазме время образования фибринового сгустка в секундах.		

Примечание. В зависимости от объема используемой кюветы количество рабочего реагента и анализируемой плазмы может быть пропорционально изменено при сохранении соотношения плазма : РР.

8. РАСЧЁТЫ

8.1. **Протромбиновое время (ПВ)** – это время образования фибринового сгустка после добавления тромбопластина к анализируемой плазме, выраженное в секундах.

8.2. **Протромбиновое отношение (ПО)** вычисляется по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ_{па}}{ПВ_{пн}},$$

где: ПВ_{па} – ПВ анализируемой плазмы: плазмы пациента или контрольной плазмы.

ПВ_{пн} – это геометрическое среднее* значений ПВ плазм нормального уровня от здоровых людей в популяции (минимум от 20 человек). ПВ нормальной плазмы измеряется в каждой конкретной лаборатории. При необходимости возможно использование контрольной нормальной плазмы.

Геометрическое среднее значений ПВ вычисляется по формуле:

$$ПВ_{пн} = \sqrt[n]{ПВ_1 \times ПВ_2 \times \dots \times ПВ_n},$$

где: ПВ₁ – значение ПВ первой плазмы,

ПВ₂ – значение ПВ второй плазмы,

ПВ_n – значение ПВ n-ой плазмы,

n – количество плазм, у которых было измерено ПВ.

*При невозможности вычисления геометрического среднего допускается использование арифметического среднего.

8.3. **Протромбиновый индекс (ПИ)** выражается в процентах и вычисляется по формуле:

$$ПИ = \frac{ПВ_{па}}{ПВ_{пн}} \times 100\%$$

8.4. **Международное нормализованное отношение (МНО)** вычисляется по формуле:

$$MHO = \left(\frac{PB_{\text{па}}}{PB_{\text{пн}}} \right)^{MICH}$$

где: МИЧ - международный индекс чувствительности тромбопластина, указан в паспорте к набору.

8.5. Протромбин по Квику рассчитывают по калибровочному графику, построенному по значениям времени свертывания разведенной аттестованной плазмы нормального уровня. Выражается в процентах.

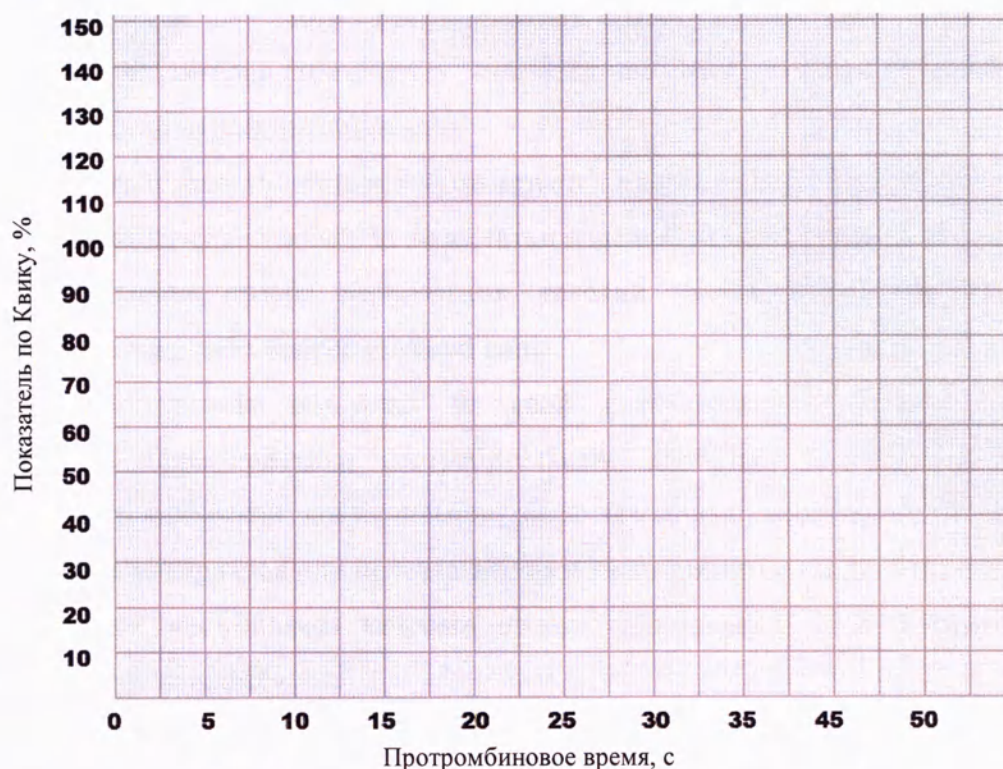
Для построения калибровочного графика взять контрольную плазму нормального уровня, аттестованную по значению протромбинового индекса по Квику (например, «Контрольная плазма», уровень 1, АО «Вектор-Бест»), или калибратор протромбинового времени. Приготовить последовательные разведения плазмы раствором натрия хлорида 0,9% для инъекций, как указано в таблице 2.

Таблица 2

№	Разведение	Плазма, мкл	0,9 % NaCl, мкл	Показатель по Квику*, %
1	1/1	200	0	X
2	1/2	100	100	0,5*X
3	1/4	50	150	0,25*X
4	1/8	25	175	0,125*X

* X - аттестованное значение протромбина по Квику указано в паспорте контрольной плазмы

Последовательно определить протромбиновое время в секундах для каждого разведения плазмы, как указано в п. 7.2.3. Построить калибровочный график зависимости протромбина по Квику от ПВ, откладывая по оси ординат значения показателя по Квику в %, а по оси абсцисс – протромбиновое время в секундах.



В анализируемых образцах измерить протромбиновое время и рассчитать протромбин по Квику по калибровочному графику.

Если значение протромбина по Квику в анализируемом образце выходит за пределы линейности, то образец следует разбавить в 2 раза раствором натрия хлорида изотонического 0,9% для инъекций, измерения повторить, полученный результат умножить на 2.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 сут.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным плазмам, аттестованным данным методом и зарегистрированным в Российской Федерации (например, «Контрольная плазма», АО «Вектор-Бест»).

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

9.6. Набор предназначен для однократного применения.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируется в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «Протромбин ЛК», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, а/я 121, тел. (383) 227-75-50, тел./факс (383) 252-51-77.

Список литературы:

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: «Ньюдиамед», 2008. – 289 с.

2. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. – Казань: ФЭН, 2000. - 364 с.

3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. Монография. - СПб.: ФормаТ, 2006. - 208 с.

4. WHO Expert Committee on Biological Standardization. Guidelines for thromboplastins and plasma used to control oral anticoagulant therapy. *WHO Technical Report Series*. No. 880, Geneva: World Health Organization; 1999.

Младший научный сотрудник
АО «Вектор-Бест»

Н.С. Щербакова

Старший научный сотрудник
АО «Вектор-Бест»

К.С. Бабин

Начальник отдела биохимии
АО «Вектор-Бест», к.б.н.

Г.Е. Яковлева

«СОГЛАСОВАНО»

Ректор
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор

И.О. Маринкин

3

05 2022 г



Пронумеровано, пронумеровано и
скреплено печатью 8 листов.
Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.

11 " 05 20 22 г.

