



Тромбопластин с кальцием растворимый на 50-100 опр.

ИНСТРУКЦИЯ по применению реагента для определения протромбинового времени (Тромбопластин с кальцием растворимый)

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент для определения протромбинового времени (Тромбопластин с кальцием растворимый) предназначен для определения протромбинового времени свертывания (ПВ) в плазме венозной крови, расчета протромбинового отношения (ПО), протромбинового индекса (ПТИ), протромбинового показателя по Квику на разных коагулометрах, в том числе автоматических, или вручную. Определение протромбинового времени используется при контроле за лечением антикоагулянтами непрямого действия, а также для выявления дисфункции внешнего пути коагуляции. Реагент может быть использован для определения уровня фибриногена гравиметрическим методом по Р.А. Рутберг.

Реагент предназначен только для профессионального использования специалистами в области лабораторной диагностики: заведующими лабораториями, врачами КЛД, врачами-лаборантами, медицинскими лабораторными техниками (фельдшер-лаборант), лаборантами, медицинскими технологами.

Область применения реагента: клиническая лабораторная диагностика, клиническая медицина.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТА

Принцип метода. Заключается в определении протромбинового времени – времени образования фибрина в плазме венозной крови в присутствии ионов кальция и тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика). На основе данных измерения протромбинового времени свертывания осуществляют расчет ПО, ПТИ, протромбинового показателя по Квику. Образовавшийся после свертывания плазмы крови в присутствии тромбопластина и кальция сгусток обезживается (путем отжима на фильтровальной бумаге) и измеряется масса образовавшегося фибрина, по которой рассчитывается концентрация фибриногена в плазме.

Фасовка:

Комплектация № 1 (кат. № 643):

1. Тромбопластин (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга, буфер, консерванты и стабилизаторы), на 2 мл – 5 фл.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕАГЕНТА

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени – не более 6 %.

Допустимое отклонение протромбинового времени от аттестованного значения – не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы крови разными реагентами одной – серии не более 10 %.

Линейность определения показателя по Квику – в диапазоне 12,5-100 %, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к реагенту.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения реагента – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Реагент используется только для применения in vitro.

Реагент в используемой концентрации не токсичен.

При работе с реагентом следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с реагентом следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- коагулометр (при отсутствии коагулометра - секундомер, водяная баня на +37 °С, пробирки стеклянные);
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,1-1,0 и 5,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- аналитические весы с точностью 0,0001 г;
- фильтровальная бумага;
- вода дистиллированная;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- плазма-калибратор («Мультитех-калибратор» кат. № 773, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- контрольная плазма с нормальным диапазоном значений («Техноклот Н» кат. № 774, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- контрольная плазма с патологическим диапазоном значений («Техноклот П» кат. № 775, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- «Кальция хлорид» (кат. № 022 производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 4 ч назад, а также замороженной плазмы крови. Для данного анализа не допускается хранение образцов биологического материала при температуре +2... +8 °С в связи с возможностью холодовой активации фактора VII.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Подготовка тромбопластина

В один из флаконов с тромбопластином в комплектации № 1 внести 2,0 мл дистиллированной воды. Флакон встряхнуть и выдержать при +37 °С (на водяной бане или в термостате коагулометра) в течение не менее 20 мин.

1.2. Подготовка плазмы-калибратора

Для получения калибровочных значений протромбинового времени пригоден один из двух, представленных ниже вариантов:

Вариант 1: Во флакон с «Мультитех-калибратором» (кат. № 773) внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании до полного растворения реагента. Разведенную плазму-калибратор перед исследованием выдержать 25-30 мин при комнатной температуре.

Вариант 2: Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. выше раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равных пропорциях.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

2.1. Определение протромбинового времени на полуавтоматическом коагулометре или вручную

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл плазмы-калибратора или анализируемого образца пациента.

2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

3. Добавить 0,2 мл суспензии тромбопластина, имеющей температуру +37 °С, и начать отсчет времени свертывания до образования фибринового сгустка.

Объем смешиваемых реагентов и плазмы может отличаться для разных конструкций коагулометров.

Каталожный номер реагента: **643**

ООО фирма "Технология-Стандарт"

656037, Барнаул, а/я 1351, тел./факс (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39, 27-13-00

2.2. Определение протромбинового времени на автоматическом коагулометре

Коагулометр в автоматическом режиме смешивает плазму-калибратор или анализируемый образец пациента с суспензией тромбопластина, после чего регистрирует время свертывания.

Описание и настройки представлены в инструкции производителя автоматического коагулометра.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты могут быть представлены в следующих вариантах: протромбиновое время (ПВ, секунды), протромбиновое отношение (ПО), протромбиновый индекс (ПТИ, %), протромбиновый показатель по Квику (%).

Значения, полученные у здоровых лиц в различных лабораториях, отличаются в зависимости от реагентов и анализаторов. Значения, полученные у здоровых лиц в различных лабораториях, отличаются в зависимости от локальных особенностей выполнения преаналитического этапа исследования и способа регистрации коагуляции, поэтому в каждой лаборатории должны быть приняты собственные референтные интервалы.

Порядок расчета:

1. Протромбиновое время свертывания (ПВ, с)

Отмечают ПВ у пациента с указанием значений, полученных при исследовании плазмы-калибратора.

В норме протромбиновое время составляет 10-18 с.

2. Протромбиновое отношение (ПО).

ПО рассчитывается по формуле:

ПО = (ПВ пациента / ПВ плазмы-калибратора);

В норме ПО составляет 0,9-1,4.

3. Протромбиновый индекс (ПТИ, %).

ПТИ рассчитывается по формуле:

ПТИ = (ПВ плазмы-калибратора / ПВ пациента) x 100 %

В норме ПТИ составляет 70-130 %.

4. Протромбиновый показатель по Квику (%)

Протромбиновый показатель по Квику характеризует активность факторов протромбинового комплекса, выраженную в %. Показатель определяют по калибровочному графику, который строят путем измерения протромбинового времени свертывания в разведениях плазмы-калибратора при использовании «Мультитех-калибратор» (кат. № 773, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно), либо в разведениях плазмы, приготовленной при смешивании 3-5 образцов бедной тромбоцитами плазмы здоровых людей. Протромбиновый показатель по Квику в пулированной плазме принимают за 100 %.

Построение калибровочной кривой

Подавляющее большинство коагулометров способно построить калибровочный график и вычислить протромбиновый показатель по Квику. При мануальной технике выполнения готовят разведения плазмы-калибратора в физиологическом (0,9 %) растворе натрия хлорида в соответствии с представленной ниже таблицей.

Таблица 1

Приготовление калибровочных разведений					
Номер пробы	Плазма-калибратор и ее разведения	+	Физиологический раствор	Разведение	Протромбиновый показатель по Квику пулированной плазмы, % *
1	0,25 мл	+	0,0 мл	-	100
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	50
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	25
4	0,25 мл пробы 3	+	0,25 мл	1 + 7	12,5

* Примечание: при использовании в качестве плазмы-калибратора медицинского изделия «Мультитех-калибратор» (кат. № 773), следует использовать значение протромбинового показателя по Квику, указанное в паспорте к изделию.

С каждой пробой (№ 1-4) дважды определяют протромбиновое время, как описано выше (см. раздел «Проведение анализа»). Полученные средние значения (в с) наносят на

горизонтальную ось калибровочной сетки. На вертикальную ось этой сетки наносят значения протромбинового показателя по Квику в разведениях пулированной плазмы (100, 50, 25 и 12,5 %) или плазмы-калибратора. Через полученные на пересечениях точки проводят калибровочную линию.

Определение протромбинового показателя по Квику

Определяют протромбиновое время в плазме пациента как описано выше (см. раздел «Проведение анализа»). При мануальной технике выполнения определяют протромбиновый показатель по Квику по калибровочному графику на координатной сетке, представленной в паспорте к реагенту, а также на сайте компании <https://www.tehnologia-standard.ru>, <http://технология-стандарт.рф>.

В норме протромбиновый показатель по Квику при использовании тромбопластина - более 60 %.

5. Определение концентрации фибриногена по Рутберг

В случае невозможности в лаборатории определения концентрации фибриногена по Клауссу, тромбопластин может быть использован для определения концентрации фибриногена по Рутберг. Для выполнения метода дополнительно требуется кальция хлорид (5,54 % раствор, кат. № 022).

Ход определения

1. В пробирке последовательно смешать 1,0 мл исследуемой бедной тромбоцитами плазмы крови, 0,1 мл суспензии тромбопластина и 0,1 мл 5,54 % раствора кальция хлорида.

2. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °С.

3. Через 10 мин образовавшийся сгусток перенести на фильтровальную бумагу и высушить путем сжатия и перемещения сгустка по фильтровальной бумаге. Высушивание произвести до потери на фильтре следов влаги.

4. Сгусток фибрина выдержать на открытом воздухе при комнатной температуре (+18...+25 °С) в течение 15-20 мин и взвесить на аналитических весах.

В норме масса сгустка, полученного из 1 мл плазмы крови, составляет 10-20 мг. Содержание фибриногена в г/л находят при умножении массы сухого фибрина на коэффициент 0,2.

В норме содержание фибриногена в плазме составляет 2,0-4,0 г/л.

4. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества рекомендуется использовать контрольную плазму с нормальным диапазоном значений «Техноклот Н» (кат. № 774), а также контрольную плазму с патологическим диапазоном значений «Техноклот П» (кат. № 775).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ РЕАГЕНТА

Реагент для определения протромбинового времени (Тромбопластин с кальцием растворимый), в зависимости от техники выполнения в комплектации № 1, предназначен для выполнения от 50 до 100 определений (см. таблицу 2).

Таблица 2

Максимальное число определений протромбинового времени при разном расходе суспензии тромбопластина и используемой комплектации

Объем расхода реагента «Тромбопластин» на одно определение	Количество определений в комплектации № 1
0,2 мл	50
0,1 мл	100

Реагент для определения протромбинового времени (Тромбопластин с кальцием растворимый) необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности – 24 месяца в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка реагента при температуре до +30 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, а также однократное замораживание.

Таблица 3.

Условия хранения реагентов

Температурный режим	После разведения тромбопластина
+37 °C	Не более 8 часов
+18... +30 °C	Не более 2 суток
+2... +8 °C	Не более 7 суток
- 20 °C	Однократное замораживание до 3-х месяцев

Не следует смешивать реагенты разных серий.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ОТХОДОВ

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию медицинского изделия следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Медицинское изделие, не подлежащее использованию, а также с истекшим сроком годности относится к медицинским отходам класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10), не содержащим потенциально опасные материалы и вещества (эпидемиологически безопасные отходы).

Все использованные одноразовые расходные материалы, образующиеся при работе с изделием, содержащие образцы плазмы крови пациентов, необходимо подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»), как потенциально инфицированные медицинские отходы класса Б (СанПиН 2.1.7.2790-10). Сбор, временное хранение и вывоз таких отходов следует выполнять в соответствии со схемой обращения с медицинскими отходами, принятой в организации, осуществляющей медицинскую деятельность.

Реагент не является горючим и взрывоопасным. Сильное нагревание вторичной упаковки (коробки и блистера) может приводить к их возгоранию.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагента. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

МАРКИРОВКА ИЗДЕЛИЯ

На флаконах и упаковке изделия нанесены следующие

символы:



Медицинское
изделие для
диагностики in vitro



Серийный номер



Температурный
диапазон



Использовать до
...

По вопросам, касающимся качества Реагента для определения протромбинового времени (Тромбопластин с кальцием растворимый), следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <https://www.tehnologia-standart.ru>, <http://технология-стандарт.пф>.

Версия инструкции 1.0.