

**ИНСТРУКЦИЯ**

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* Реагента для определения протромбинового времени (**Тромбопластин с кальцием**) по ТУ 9398-028-05595541-2009

**НАЗНАЧЕНИЕ**

**Предназначенное применение.** Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Реагента для определения протромбинового времени («Тромбопластин с кальцием») по ТУ 9398-028-05595541-2009 предназначен для определения протромбинового времени (далее – «ПВ»).

**Предназначенный пользователь.** Определение протромбинового времени с помощью реагента Тромбопластин с кальцием может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Реагент предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

**Диагностическая роль.** Определение протромбинового времени - это высокочувствительный скрининговый тест, который выявляет нарушения факторов внешнего пути свертывания крови (ф. II, V, VII и X) и рекомендуется для:

- диагностики наследственных и приобретенных коагулопатий;
- диагностики заболеваний печени [1].

**Область применения.** Область применения набора – клиническая медицина, клиническая лабораторная диагностика, лабораторная диагностика нарушений гемостаза.

**ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА****Состав набора:**

Тромбопластин с кальцием, 8 мл/флакон – 10 флаконов.

**Число анализируемых проб биологического материала**

Один набор код ПГ-4/1 предназначен для проведения 800 анализов при расходе 100 мкл тромбопластина с кальцием на один анализ или 400 анализов при расходе 200 мкл тромбопластина с кальцием на один анализ.

**Принцип метода.** 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. Определяется время от момента добавления к исследуемой плазме тромбопластина с кальцием до момента образования сгустка фибрина.

**АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ****Специфичность**

Следующие вещества не влияют на правильность определения протромбинового времени: билирубин в концентрации до 30 мг/л, свободный гемоглобин – до 100 мг/л, триглицериды – до 6 г/л и нефракционированный гепарин – до 0,6 МЕ/мл. При превышении указанных концентраций возможно получение ложно завышенных результатов определения протромбинового времени. Присутствие волчаночного антикоагулянта и низкий (менее 1 г/л) уровень фибриногена в исследуемой плазме также может приводить к получению ложно завышенных результатов.

**Чувствительность**

В зависимости от чувствительности коагулометра Тромбопластин с кальцием позволяет определить протромбин по Квику до 12,5%.

**Воспроизводимость**

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени - не более 10%. Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10%.

**Линейность**

Линейность определения протромбина по Квику от 12,5 до 100%.

**Значения, соответствующие нормальным**

Протромбиновое время, сек	12 – 18
МНО	0,85 – 1,15
Протромбин по Квику в % от нормы	70 – 130
ПИ, %	90 – 105

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Реагент Тромбопластин с кальцием не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду и не представляет рисков, связанных с возможностью взрыва и возгорания.

При работе с реагентом Тромбопластин с кальцием и с исследуемыми образцами крови пациентов следует соблюдать правила, описанные в следующих документах: «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность» (СанПиН 2.1.3. 2630-10 от 30.09.2010); Санитарно-эпидемиологические правила «Профилактика ВИЧ-инфекции» (СП 3.1.5. 2826 от 11.01.2011).

В состав Тромбопластина с кальцием входит экстракт мозга кроликов, являющийся потенциально инфицированным биологическим материалом. Безопасность каждой партии биологического материала подтверждается ветеринарным сертификатом изготовителя мозга кроликов. Тем не менее, не следует исключать остаточного минимального риска при работе с реагентом.

При работе следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, т.к. образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

**ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

- Коагулометр любого типа с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие отобрать 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- термобаня на 37°C и секундомер (для ручного определения);
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл;
- 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М);
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- Плазма-калибратор для определения МНО и протромбина по Квику (Протромбин-калибратор);
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% раствор натрия хлорида);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

**АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ****Вид анализируемого биологического материала**

Набор Тромбопластин с кальцием предназначен для определения протромбинового времени в плазме человеческой крови.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

**Процедура получения биологического материала**

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% (0,109 моль/л) 5,5-водным цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) 2-водным цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g).

**Условия хранения биологического материала**

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 8 ч при комнатной температуре. Для данного анализа не допускается хранение образцов биологического материала при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в связи с возможностью холодной активации фактора VII.

**Ограничения по использованию биологического материала**

При работе с кровью общим правилом является немедленное отделение плазмы от форменных элементов, так как некоторые вещества могут поглощаться и инактивироваться эритроцитами и лейкоцитами.

**ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Во флакон с Тромбопластином с кальцием внести 8 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при покачивании. Перед проведением анализа прогреть полученную тромбопластин-кальциевую смесь (ТКС) при 37°C в течении 30 мин.

**Приготовление раствора 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 выдерживать при комнатной температуре в течение 20 мин.

**ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ****Проведение анализа на автоматическом коагулометре**

- Выбрать на коагулометре программу для определения протромбинового времени.
- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки коагулометра.
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу измерения.
- Считать результаты.

**Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре и ручным методом на термобане**

Внести в кювету анализатора или в пробирку на термобане:	Объем, мкл
Исследуемая плазма (Протромбин-калибратор или Протромбин-контроль)	50
Инкубировать при 37°C точно 1 или 2 минуты.	
Тромбопластин-кальциевая смесь	100

**Регистрация результатов**

Измерить ПВ в исследуемой плазме от момента добавления ТКС до момента образования фибринового сгустка.

**РАСЧЕТЫ**

Результаты протромбинового теста могут быть выражены как:

- Протромбин по Квику в % от нормы;
- Протромбиновое отношение;
- Протромбиновый индекс, %.

## Протромбиновое отношение (ПО) вычислить по формуле:

$$PO_{\Pi} = \frac{PB_{\Pi}}{PB_{100\%}}$$

PB<sub>100%</sub> – среднее нормальное протромбиновое время, в секундах.

PB<sub>Π</sub> – ПВ исследуемой плазмы пациента, сек.

Так как

$$PO_{ПК} = \frac{PB_{ПК}}{PB_{100\%}} \quad \text{то} \quad PB_{100\%} = \frac{PB_{ПК}}{PO_{ПК}} \quad PO = \frac{PB_{\Pi}}{PB_{ПК}} \times PO_{ПК}$$

где: ПВПК – ПВ Протромбин-калибратора, сек.

ПОПК – протромбиновое отношение Протромбин-калибратора (указано в паспорте на Протромбин-калибратор).

## Протромбиновый индекс (ПИ) вычислить по формуле:

$$PI = \frac{PB_{100\%}}{PB_{\Pi}} \times 100\% \quad \text{или} \quad PI_{\Pi} = \frac{PB_{ПК}}{PB_{\Pi}} \times PI_{ПК}$$

ПИК – протромбиновый индекс Протромбин-калибратора (указан в паспорте на плазму, не входит в состав набора).

## Построение калибровочного графика для определения протромбина по Квику

Приготовить ряд разведений Протромбин-калибратора физиологическим раствором по следующей схеме.

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

\*A – аттестованное значение протромбина по Квику (в % от нормы) в Протромбин-калибраторе.

Протромбин по Квику в % от нормы в плазме пациента определить по калибровочному графику, построенному с использованием разных разведений Протромбин-калибратора.

Для каждого разведения Протромбин-калибратора определить протромбиновое время (ПВ), сек, и нанести полученные значения на координатную сетку (скачать с сайта [www.genam.ru](http://www.genam.ru)). Построить калибровочный график зависимости ПВ, сек, (ось X) от Протромбина по Квику, %, (ось Y).

## Определение протромбина по Квику в плазме пациента

Определить ПВ в исследуемых образцах и по графику рассчитать протромбин по Квику. Образцы с высоким уровнем 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 физиологическим раствором в 2 раза. При этом результат, полученный по калибровочному графику, умножить на 2.

Для удобства работы на график нанесена также вторая ось (Y) с величинами, обратными значению протромбина (1/протромбин в %) и таблица пересчета обратных величин.

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Удлинение протромбинового времени может быть связано с:

- дефицитом факторов внешнего пути свертывания (II, V, VII, X);
- дефицитом витамина K;
- приемом антикоагулянтов непрямого действия (например, варфарина, синкумара и др.);
- ДВС-синдромом (фаза гипокоагуляции);
- афибриногенемией, гипофибриногенемией, дисфибриногенемией;
- заболеванием печени;
- антикоагулянтами прямого действия (гепарин);
- злокачественными опухолями.

Укорочение протромбинового времени свидетельствует об:

- активации внешнего пути свертывания и гиперкоагуляции;
- повышении активности факторов внешнего пути свертывания;
- ДВС-синдроме;
- активации системы фибринолиза.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения протромбина по Квику и ПО следует контролировать с помощью набора Протромбин-контроль, код КМ-17 или Плазмы контрольной (пул здоровых доноров) Плазма Н, код КМ-1.

## УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 24 месяца. Набор стабилен в течение всего срока годности реагента при условии хранения в упакованном виде при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Приготовленные растворы следует хранить в плотно укуленном состоянии.

Стабильность тромбопластин-кальциевой смеси (ТКС).

+370С	+18-250С	+2-80С
8 часов	8 часов	5 суток

Транспортирование наборов должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°C не более 10 сут. Замораживание набора Тромбопластин с кальцием допускается.

## ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие реагента Тромбопластин с кальцием требованиям Технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.

## МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

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

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на ¾, 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. Реагент Тромбопластин с кальцием, не подлежащий использованию, и с истекшим сроком годности относится к отходам класса Г. Сбор и временное хранение отходов класса Г осуществляется в маркированные емкости («Отходы. Класс Г») в одноразовую маркированную упаковку любого цвета (кроме желтого и красного). Вывоз отходов класса Г для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Г осуществляется в соответствии с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к порядку накопления, транспортирования, обезвреживания и захоронения токсичных промышленных отходов.

## СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

Символ	Наименование символа
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Биологический риск
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель

Дата утверждения инструкции 28 сентября 2009 г.

## ЛИТЕРАТУРА

- Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., «НьюДиамед», 2001.- 285 с.
- Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.С., Козлов А.А. Внешний путь свертывания крови. Методы исследования. М. 2016.- 73 с.
- Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000.- 360 с.
- WHO Expert Committee on Biological Standardization. Guidelines for thromboplastins and plasma used to control oral anticoagulant therapy. WHO Technical Report Series 1999; No. 889: 64-93.

## ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

- ГОСТ Р 51088-2013. Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.
- ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
- ГОСТ Р ИСО18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация. Предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
- ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
- ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.
- ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции.
- ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия.
- ГОСТ Р ЕН 13612-2010 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ЕН 13641-2010 Устранение или снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro.
- Приказ Минздрава России от 19.01.2017 г №11н «Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинских изделий».

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2. тел/факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: [info@renam.ru](mailto:info@renam.ru).