УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО фирмы
«Технология-Стандарт»
_____ А.П. Момот
«__» _____ 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для определения протромбинового времени в капиллярной крови
и плазме венозной крови
(Техпластин-тест (К))

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения протромбинового времени в капиллярной крови и плазме венозной крови (Техпластин-тест (К)) предназначен для малотравматичного и быстрого определения протромбинового времени свертывания (ПВ), расчета протромбинового отношения (ПО), протромбинового индекса (ПТИ), международного нормализованного отношения (МНО) и протромбинового показателя по Квику в стабилизированной цитратом натрия капиллярной крови и в плазме, полученной из стабилизированной цитратом натрия венозной крови на полуавтоматических коагулометрах с механическим принципом регистрации результатов, а также мануально.

Определение протромбинового времени используется при контроле за лечением антикоагулянтами непрямого действия, а также для выявления дисфункции внешнего пути коагуляции.

Набор 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 набора: клиническая лабораторная диагностика, клиническая медицина.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Заключается в определении протромбинового времени – времени образования фибрина в капиллярной крови и 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, МНО и протромбинового показателя по Квику.

Состав набора:

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

2. Растворитель для Техпластина (К), 10,5 мл – 1 фл.

3. Плазма-калибратор (лиофильно высушенная) – 1 фл.

4. Цитрат натрия (трёхзамещенный, лиофильно высушенный), на 5 мл, 3,8 % раствора – 2 фл.

5. Копье-скарификатор – 100 шт.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

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

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

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

Линейность определения показателя по Квику – в диапазоне 25-100 %, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Техпластин (К) не чувствителен к гепарину в терапевтическом диапазоне.

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

Международный индекс чувствительности (МИЧ) указан в паспорте к набору. Стандартизация Техпластина (К) проводится с использованием внутреннего стандарта, аттестованного по международному стандартному образцу тромбопластина кролика (RBT/16), аттестованного по МИЧ и рекомендованного ВОЗ.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Набор реагентов используется только для применения in vitro.

Реагенты, входящие в состав набора, в используемых концентрациях не токсичны.

Компоненты набора реагентов не содержат антитела к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg.

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

При работе с набором 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

- Полуавтоматический коагулометр с механическим принципом регистрации результатов (например, «Анализатор гемостаза полуавтоматический STart Max с принадлежностями») (при отсутствии коагулометра - секундомер, водяная баня на +37 °С, пробирки стеклянные);
- капилляры Панченкова, используемые для получения необходимого соотношения (9:1) крови с раствором цитрата натрия. При этом общий, маркированный рисками объем капилляра составляет, как правило, 0,11-0,15 мл;
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,05-0,2, 0,1-1,0 и 5,0 мл;
- вода дистиллированная;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПОЛУЧЕНИЕ КАПИЛЛЯРНОЙ КРОВИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Капилляр Панченкова промыть 3,8 % раствором цитрата натрия.

Для достижения точных результатов рекомендуется использовать входящий в состав данного набора цитрат натрия. Для его разведения в один из флаконов, содержащих сухой реагент, внести 5,0 мл дистиллированной воды. В результате получают 3,8 % раствор, который (для сохранения стабильной концентрации при хранении) разливают по 0,9-1,0 мл в пластиковые или стеклянные флаконы и замораживают при -16...-20 °С на срок до 1 месяца. Перед использова-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

нием один из флаконов с 3,8 % раствором цитрата натрия размораживают и хранят в течение 1 дня. Этого флакона достаточно для приготовления до 30 образцов стабилизированной цитратом капиллярной крови. Второй флакон с сухим цитратом натрия используют по мере необходимости.

2. После обработки спиртом и прокола мякоти пальца скарификатором первую каплю крови удалить ватным тампоном.

3. В капилляр набрать 3,8 % раствор цитрата натрия до деления "80". Затем в тот же капилляр добрать кровь так, чтобы общий объем жидкости достиг деления "0".

4. Полученную смесь перенести в чистую пробирку.

5. В тот же капилляр повторно набрать кровь до деления "0".

6. В пробирке смешать обе порции крови, дополнительно перемешать их пипетированием. При этом получают капиллярную кровь, стабилизированную 3,8 % раствором цитрата натрия в соотношении 9:1.

При значительных изменениях гематокрита (ниже 35 % или выше 55 %) пересчитывают необходимое соотношение объемов крови и стабилизатора (см. Руководство: Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с).

7. Калиброванной пипеткой внести по 0,1 мл стабилизированной крови в две кюветы для коагулометра или в две чистые пробирки (при мануальном определении). До исследования образцы крови хранят при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 30 мин, желательно в герметично закрытом виде.

При получении крови из пальца следует избегать давления на мягкие ткани, поскольку это увеличивает содержание в капиллярной крови тканевой жидкости и влияет на результаты анализа. Не допускается также анализ крови, содержащей избыток цитрата натрия (например, забранной у больного в соотношении 4:1) и полученной более 30 мин назад. В последнем случае объем крови в кювете (или пробирке) уменьшается за счет высыхания.

ПОЛУЧЕНИЕ ПЛАЗМЫ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

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 тече-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ние 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 Техпластина (К)

В один флакон с Техпластином (К) для определения показателей в капиллярной крови внести 5,0 мл растворителя для Техпластина (К). Для определения показателей в плазме венозной крови во флакон с Техпластином (К) внести 5,0 мл дистиллированной воды. Флакон встряхнуть и выдержать при температуре +37 °С (на водяной бане или в термостате коагулометра) в течение 20 мин. Перед каждым определением суспензию реагента перемешать, чтобы не было осадка.

1.2. Подготовка плазмы-калибратора

Во флакон с плазмой-калибратором для определения показателей в капиллярной крови внести 0,8 мл дистиллированной воды. Для определения показателей в плазме венозной крови во флакон с плазмой-калибратором 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 использованием выдержать 25-30 мин при комнатной температуре. Использовать для получения нормативных данных и контроля активности суспензии Техпластина (К).

1.3. Подготовка цитрата натрия

См. п. 1. раздела «Получение капиллярной крови для исследования».

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

2.1. Определение контрольных (нормальных) показателей

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

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Добавить 0,2 мл суспензии Техпластина (К), имеющего температуру +37 °С, и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.

2.2. Исследование капиллярной крови пациентов

1. Кювету коагулометра с 0,1 мл капиллярной крови пациента (или пробирку при мануальном определении) инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

2. Добавить 0,1 мл суспензии Техпластина (К), имеющего температуру +37 °С, и начать отсчет времени свертывания до образования сгустка.

2.3. Исследование плазмы венозной крови пациентов

1. Кювету коагулометра с 0,1 мл плазмы венозной крови пациента (или пробирку при мануальном определении) инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

2. Добавить 0,2 мл суспензии Техпластина (К), имеющего температуру +37 °С, и начать отсчет времени свертывания до образования сгустка.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

Значения, полученные у здоровых лиц в различных лабораториях, отличаются в зависимости от реагентов и анализаторов, а также 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:

$$ПО = \frac{ПВ\ пациента}{ПВ\ плазмы\text{-}калибратора}$$

В норме ПО составляет **0,9-1,4.**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Международное нормализованное отношение (МНО)

При контроле за лечением непрямыми антикоагулянтами определяют МНО, исходя из ПО и международного индекса чувствительности (МИЧ), который указан в паспорте к набору.

Последовательность расчета:

А) $$ПО = \frac{ПВ\ пациента}{ПВ\ плазмы\text{-}калибратора};$$

Б) $$МНО = ПО^{МИЧ}.$$

Пример: ПВ плазмы пациента, получающего непрямые антикоагулянты - 45 с; ПВ плазмы-калибратора - 15 с; МИЧ = 1,2.

В этом случае МНО $= ПО^{МИЧ} = (45:15)^{1,2} = 3{,}00^{1,2} = 3{,}74$.

Нормальное МНО близко к **1,0** (диапазон нормы 0,9-1,5). При лечении антикоагулянтами непрямого действия обычно доводят МНО до 2,0-3,5, в зависимости от клинических показаний. Чем выше МНО, тем значительнее гипокоагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения.

Таблица пересчёта ПО в МНО представлена в паспорте к набору

4. Протромбиновый индекс (ПТИ, %)

ПТИ рассчитывается по формуле:

$$ПТИ = \frac{ПВ\ плазмы\text{-}калибратора}{ПВ\ пациента} \times 100\ \%$$

В норме ПТИ составляет **70-130 %.**

5. 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. Значение протромбинового показателя по Квику в плазме-калибраторе указано в паспорте к набору.

Построение калибровочной кривой

Подавляющее большинство полуавтоматических коагулометров способно построить калибровочный график и вычислить протромбиновый показатель по Квику. При мануальной тех-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

нике 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 плазмы-калибратора, %
1	0,25 мл	+	0,0 мл	-	С
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	С/2
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	С/4

Примечание. С – значение протромбинового показателя по Квику (%). Указано в паспорте к набору реагентов.

С каждой пробой (№ 1-3) 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 плазмы-калибратора. Через полученные на пересечениях точки проводят калибровочную линию.

Определение протромбинового показателя по Квику

Определяют протромбиновое время в крови 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 набору, а также на сайте компании https://www.tehnologia-standart.ru, htpp://технология-стандарт.рф.

В норме протромбиновый показатель по Квику при использовании Техпластина (К) - более **60 %.**

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения протромбинового времени в капиллярной крови и плазме венозной крови (Техпластин-тест (К)) рассчитан на проведение 100 определений при расходе суспензии Техпластина (К) по 0,1 мл на 1 анализ.

Набор реагентов для определения протромбинового времени в капиллярной крови (Техпластин-тест (К)) необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности – **18 месяцев**. Допускается транспортировка набора при температуре до +30 °С в течение 30

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, а также однократное замораживание.

Таблица 2

Условия хранения реагентов

Температурный режим	Суспензия Техпластина (К)	Плазма-калибратор	Цитрат натрия
+37 °С	Не более 1 суток	-	-
+18... +30 °С	Не более 3 суток	Не более 4 часов	Не более 1 суток
+2... +8 °С	Не более 10 суток	-	-
- 20 °С	Однократное замораживание до 3-х месяцев	-	До 1 месяца в герметичной посуде

Возможная ошибка при хранении и применении суспензии Техпластина (К): использование на следующий день ранее прогретого при температуре +37 °С реагента. Последнее закономерно приводит к удлинению протромбинового времени свертывания в плазме-калибраторе.

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.

Реагенты, входящие в состав набора, не являются горючими и взрывоопасными. Сильное нагревание вторичной упаковки (коробки и блистера) может приводить к их возгоранию.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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 набора. 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 Набора реагентов для определения протромбинового времени в капиллярной крови и плазме венозной крови (Техпластин-тест (К)), 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, htpp://технология-стандарт.рф.

Версия инструкции 2.0.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru