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

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для определения протромбинового времени
(Техпластин-тест)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) предназначен для определения протромбинового времени свертывания (ПВ) в плазме, полученной из стабилизированной цитратом натрия венозной крови, расчета протромбинового отношения (ПО), протромбинового индекса (ПТИ), международного нормализованного отношения (МНО) и протромбинового показателя по Квику на разных коагулометрах, в том числе автоматических, или 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.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

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, МНО и протромбинового показателя по Квику.

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

Состав набора (варианты комплектации):

Комплектация № 1 (кат. № 608):

1. Техпластин (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга, буфер, консерванты и стабилизаторы), на 2 мл – 4 фл.

Комплектация № 2 (кат. № 607):

1. Техпластин (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга, буфер, консерванты и стабилизаторы), на 5 мл – 4 фл.

Комплектация № 3 (кат. № 140):

1. Техпластин (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга, буфер, консерванты и стабилизаторы), на 2 мл – 4 фл.

2. Плазма-калибратор (лиофильно высушенная), на 1 мл - 1 фл.

Комплектация № 4 (кат. № 131):

1. Техпластин (лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга, буфер, консерванты и стабилизаторы), на 5 мл – 4 фл.

2. Плазма-калибратор (лиофильно высушенная), на 1 мл - 1 фл.

Комплектация № 5 (кат. № 748):

1. Техпластин (тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга, буфер, консерванты и стабилизаторы), 10 мл суспензии – 4 фл.

Комплектация № 6 (кат. № 735):

1. Техпластин (тромбопластин-кальциевая смесь из кроличьего мозга, буфер, консерванты и стабилизаторы), 10 мл суспензии – 10 фл.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени – не более 5 %.

Допустимое отклонение протромбинового времени от аттестованного значения – не более 5 %.

Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии – не более 5 %.

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

Техпластин 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 проводится с использованием внутреннего стандарта, аттестованного по меж-

дународному 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

- коагулометр с оптическим или механическим принципом регистрации образования сгустка (например, «Анализатор гемостаза полуавтоматический STart Max с принадлежностями») (при отсутствии коагулометра - секундомер, водяная баня на +37 °С, пробирки стеклянные);
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,05-0,2, 0,1-1,0, 2,0 и 5,0 мл;
- 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);

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

- 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 Техпластина

В один из флаконов с лиофильно высушенным Техпластином в комплектациях № 1 и № 3 внести 2,0 мл дистиллированной воды, в комплектациях № 2 и № 4 – внести 5,0 мл дистиллированной воды. Флакон встряхнуть и выдержать при +37 °С (на водяной бане или в термостате коагулометра) в течение не менее 20 мин.

Жидкая суспензия Техпластина в комплектациях № 5 и № 6 готова к использованию. Перед проведением исследования один из флаконов с жидкой суспензией Техпластина необходимо встряхнуть и прогреть при температуре +37 °С в течение не менее 10 мин.

1.2. Подготовка плазмы-калибратора для комплектаций № 3 и № 4

Плазма-калибратор входит в состав набора в комплектациях № 3 и № 4.

Во флакон с плазмой-калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18…+25 ºС) и легком покачивании до полного растворения реагента. Разведенную плазму-калибратор перед исследованием выдержать не менее 25-30 мин при комнатной температуре.

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

1.3. Получение плазмы-калибратора для комплектаций № 1, № 2, № 5 и № 6

Плазма-калибратор в состав набора в комплектациях № 1, № 2, № 5 и № 6 не входит. 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 мануально

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 Техпластина, имеющей температуру +37 °С, и начать отсчет времени свертывания до образования фибринового сгустка.

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

2.2. Определение протромбинового времени на автоматическом коагулометре

Коагулометр в автоматическом режиме смешивает плазму-калибратор или анализируемый образец пациента с суспензией Техпластина, 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), 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 преаналити-

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

ческого 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.**

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 МНО удерживают в диапазоне 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:

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

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

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 при использовании «Мультитех-калибратор» (кат. № 773, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно), плазмы-калибратора, входящей в состав набора (для комплектаций № 3 и № 4), 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, %	Протромбиновый показатель по Квику плазмы-калибратора, %*
1	0,25 мл	+	0,0 мл	-	100	С
2	0,25 мл	+	0,25 мл	1 + 1	50	С/2
3	0,25 мл пробы 2	+	0,25 мл	1 + 3	25	С/4
4	0,25 мл пробы 3	+	0,25 мл	1 + 7	12,5	С/8

* Примечание: С – Значение протромбинового показателя по Квику (%). Указано в паспорте к набору или в паспорте к калибровочной плазме медицинского изделия «Мультитех-калибратор» (кат. № 773).

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

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

плазмы-калибратора (С, С/2, С/4, С/8). 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 набору, а также на сайте компании https://www.tehnologia-standart.ru, htpp://технология-стандарт.рф.

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

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 НАБОРА

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест), в зависимости от техники выполнения и комплектации, предназначен для выполнения от 40 до 1000 определений (см. таблицу 2).

Таблица 2

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

Объем расхода реагента «Техпластин» на одно определение	Количество определений в разных вариантах комплектаций набора					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
0,2 мл	40	100	40	100	200	500
0,1 мл	80	200	80	200	400	1000

Набор реагентов для определения протромбинового времени (Техпластин-тест) необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора: в комплектациях № 1, № 2, № 3 и № 4 – **24 месяца**, в комплектациях № 5 и № 6 – **18 месяцев** в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

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

Допускается транспортировка набора 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	**Комплектации № 1, № 2, № 3 и № 4 после разведения Техпластина**	**Комплектации № 5 и № 6 после вскрытия флакона Техпластина**
+37 °С	Не более 2 суток	
+18... +30 °С	Не более 10 суток	
+2... +8 °С	Не более 20 суток	Не более 31 суток
- 20 °С	Однократное замораживание до 3-х месяцев	

Плазму-калибратор, входящую в состав наборов в комплектациях № 3 и № 4, после приготовления можно хранить при температуре +18... +30 °С не более 4 часов, не замораживать.

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 (Техпластин-тест), 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