



Інструкція
з використання набору реагентів
для визначення протромбінового часу
ПЧ-ТЕСТ

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 40-80 визначень при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Принцип методу

Вимірюється протромбіновий час - час утворення фібрину в плазмі крові в присутності іонів кальцію і тромбoplastина (розчиненого екстракту з мозку кролика).

Призначення

ПЧ-тест призначений для оцінки протромбінового часу згортання. Вимірювання проводять на коагулометрі або мануально. Визначення протромбінового часу, використовується для тестування факторів протромбінового комплексу (II - протромбіну, V, VII, X) і контролю за лікуванням антикоагулянтами непрямої дії.

Склад набору

1. Тромбoplastин-кальцієва суміш (ліофільно висушена з кролячого мозку) на 2 ml (мл) суспензії - 4 фл. Міжнародний індекс чутливості (МІЧ) вказано в Паспорті до набору.
2. Контрольна плазма (ліофільно висушена контрольна плазма крові людини), на 1 ml (мл) - 1 фл.
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

Аналітичні характеристики

Коефіцієнт варіації результатів визначення протромбінового часу не перевищує 10%.

Допустимий розкид результатів визначення протромбінового часу в одній пробі плазми крові різними наборами однієї серії не перевищує 10%.

Перелік необхідного устаткування

- коагулометр (при відсутності коагулометра-секундомір, термобаня на 37°C);
- центрифуга лабораторна;
- піпетки місткістю 0.1, 0.2, 0.25, 1.0 і 5.0 ml (мл);
- пробірки скляні;
- фізіологічний (0.9%) розчин натрію хлориду.

Підготовка зразків

Кров для дослідження забирають з ліктьової вени в пластикову або силіконову пробірку, що містить 3.2% розчин натрію лимоннокислого трьох заміщеного цитрату натрію, співвідношення обсягів крові і цитрату натрію - 9:1. Кров центрифугують при 3000-4000 г/min (об/хв) (1200 g) протягом 15 min (хв). В результаті отримують бідну тромбоцитами плазму, яку переносять в іншу пробірку, де зберігають до проведення дослідження. Центрифугування має проводитися безпосередньо після взяття крові, а відбір плазми на дослідження - відразу ж після центрифугування. Не допускається аналіз плазми, що має згустки, гемоліз, надлишок цитрату натрію і отриманої більш 2 h (год) назад, а також замороженої плазми крові.

Підготовка реагентів

Розведення тромбoplastин-кальцієвої суміші.

В один флакон з тромбoplastин-кальцієвою сумішшю внести 2.0 ml (мл) дистильованої води. Флакон струсити і витримати при 37°C (на водяній бані) протягом 20 min (хв).

Розведення контрольної плазми.

У флакон з контрольною плазмою внести 1.0 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі 18-25°C і легкому погойдуванні протягом 3 min (хв). Розведену плазму перед дослідженням витримати 25-30 min (хв) при кімнатній температурі. Використовувати для отримання нормативних даних і контролю активності розведеної тромбoplastин-кальцієвої суміші.

Проведення аналізу

Визначення контрольних (нормальних) показників

1. У кювету коагулометра або в пробірку (при мануальному визначенні) внести 0.1 ml (мл) контрольної плазми.
2. Інкубувати при температурі 37°C протягом 1 min (хв).
3. Додати 0.2 ml (мл) розведеної тромбoplastин-кальцієвої суміші, що має температуру 37°C і почати відлік часу згорання до утворення фібрину.

Аналогічно визначити протромбіновий час в зразках плазми хворих.

У нормі протромбіновий час, виміряний на коагулометрі, становить 13-18 s (с), при мануальній техніці визначення - 14-19 s (с).

Оцінка результатів

Результат виражають по одному з наступних варіантів:

1. Відзначають протромбіновий час (ПЧ) в секундах у хворого із зазначенням значень, отриманих при дослідженні контрольної плазми.

У нормі протромбіновий час, виміряний на коагулометрі, становить **13-18 s (с)**, при мануальній техніці визначення - **14-19 s (с)**.

2. Розраховують протромбінове відношення (ПВ) за формулою:

$$ПВ = \frac{ПЧ \text{ хворого}}{ПЧ \text{ контрольної плазми} \times k}$$

k – Нормалізований коефіцієнт.

Значення *k* зазначено в Паспорті до набору.

У нормі ПВ становить **0.9-1.3**.

3. Визначають протромбіновий показник по Квіку (див. Координатна сітка для побудови калібрувального графіка).

У нормі показник по Квіку при використанні даного набору більше **60%**.

4. При контролі за антикоагулянтами непрямой дії визначають міжнародне нормалізоване відношення (МНВ), виходячи з ПВ і міжнародного індексу чутливості (МІЧ), який вказано в Паспорті до набору.

Послідовність розрахунку:

$$ПВ = \frac{ПЧ \text{ хворого}}{ПЧ \text{ контрольної плазми} \times k}$$

А)

Б) МНВ=ПВ^{МІЧ}

Приклад: ПЧ плазми хворого, що одержує непрямі антикоагулянти - 45 s (с); ПЧ контрольної плазми – 15 s (с); МІЧ = 1.2; *k* = 1.0. В цьому випадку МНВ = ПВ^{МІЧ} = (45: (15 × 1.0))^{1.2} = 3.00^{1.2} = 3.74.

Нормальне МНВ близько до **1,0**. При лікуванні антикоагулянтами непрямой дії зазвичай доводять МНВ до 2.0-3.5, в залежності від клінічних показань.

Чим вище МНВ, то більша гіпокоагуляція і тим частіше і небезпечніше геморагічні ускладнення.

Таблиця перерахунку ПВ в МНВ представлена в Паспорті до набору.

Визначення протромбінового показника по Квіку

Принцип. Протромбін по Квіку характеризує активність факторів протромбінового комплексу, виражену в%, яку визначають за калібрувальним графіком.

1. Побудова калібрувального графіку. Графік будують шляхом вимірювання протромбінового часу згорання в розведеннях контрольної нормальної плазми, приготовленої при змішуванні 3-5 зразків бідної тромбоцитами плазми здорових людей. Показник по Квіку в ній приймають за 100%. Проби такої плазми можуть зберігатися в замороженому вигляді, але розморожуватись повинні на водяній бані при температурі 37°C протягом 2-3 min (хв).

Готують розведення цієї плазми в фізіологічному (0.9%) розчині хлориду натрію відповідно до наведеної нижче схемою:

№ проби	Контрольна плазма та її розведення	+	Фізіологічний розчин	Розведення	Протромбін нормальної плазми %
1	0.25ml (мл)	+	0.0ml (мл)	-	100
2	0.25ml (мл)	+	0.25ml (мл)	1+1	50
3	0.25ml (мл) проби 2	+	0.25ml (мл)	1+3	25
4	0.25ml (мл) проби 3	+	0.25ml (мл)	1+7	12.5

З кожною пробою (№ 1-4) двічі визначають протромбіновий час (в s (с)), як описано вище (див. п. Проведення аналізу). Отримані середні значення наносять на горизонтальну вісь калібрувальної сітки. На вертикальну вісь цієї ж сітки наносять значення протромбіну в розведеннях контрольної плазми, наприклад, 100, 50, 25 і 12,5%. Через отримані на перетинах точки проводять калібровану пряму.

2.Визначення протромбіну по Квіку в плазмі хворого. Визначають протромбіновий час в плазмі хворого як описано вище (див. п.2. Проведення аналізу) і по калібрувальному графіку значення часу переводять в протромбін по Квіку (в%).

У нормі протромбін по Квіку при використанні набору "ПЧ-тест" більше **60%**.

Примітки:

1. Тромбопластин-кальцієва суміш не чутлива до гепарину до 0.4 U/ml (Од/мл).
2. Для підвищення точності результатів протромбінового тесту (при розрахунку ПВ і МНВ) рекомендується враховувати нормалізуючий коефіцієнт (к) для вхідної до складу набору контрольної плазми (див. пункт 2.4 паспорта). При обліку цього коефіцієнта час згортання контрольної плазми, що входить до складу набору, наближене до пулу свіжо отриманої бідної тромбоцитами плазми. Формула для обчислення ПВ і МНВ з урахуванням нормалізуючого коефіцієнта представлена в інструкції (див. Розділ «Оцінка результатів»).

Зберігання та стабільність

Набір розрахований на дослідження 80 зразків плазми при використанні автоматичних і напівавтоматичних коагулометрів. При використанні мануальної техніки визначень і ряду напівавтоматичних коагулометрів (при витраті розчину тромбопластин-кальцієвої суміші по 0.2 ml (мл) на 1 аналіз) число визначень знижується до 40. Зберігання набору повинно проводитися при температурі 2-8°C протягом усього терміну придатності 12 mth (міс). Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Розведену тромбопластин-кальцієву суміш можна зберігати при температурі 37°C не більше 6 h (год), кімнатній температурі 18-25°C не більше 48 h (год) або не більше 7 d (доб) при температурі 2-8°C. Не заморожувати. Контрольну плазму після розведення можна зберігати при кімнатній температурі не більше 2 h (год).

Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.


Допускається транспортування при середньодобової температурі 37°C не більше 72 h (год).

Гарантії виробника


1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.



Література




1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушенной гемостаза. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозомболии антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг): метод. указания. – М.: "Ньюдиамед-АО", 2003. – 48 с.
3. Гаранина Е.Н., Авдеева Н.А. Стандартизация и контроль качества исследования протромбинового времени (обзор литературы) // Клинич. лаборат. диагностика. – 1994. – № 6. – С. 23–25.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
5. Eberhard F. Mammen. Мониторинг терапии пероральными антикоагулянтами // Лаборатория. – 1997. – № 7. – С. 10–12.


 ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14,
тел/факс: (057) 752-32-31, електронна адреса: granumlab@gmail.com

Символи на продукції

 **Виробник**
 Виготовлено: Дата виробництва
 Придатно до: Термін придатності
 Серія: Номер серії

 **Виріб медичний для діагностики in vitro**
  **Консультуйтеся з інструкцією із використання**

 **Берегти від сонячного світла**
  **Знак відповідності Технічним регламентам**
  **Температурне обмеження**

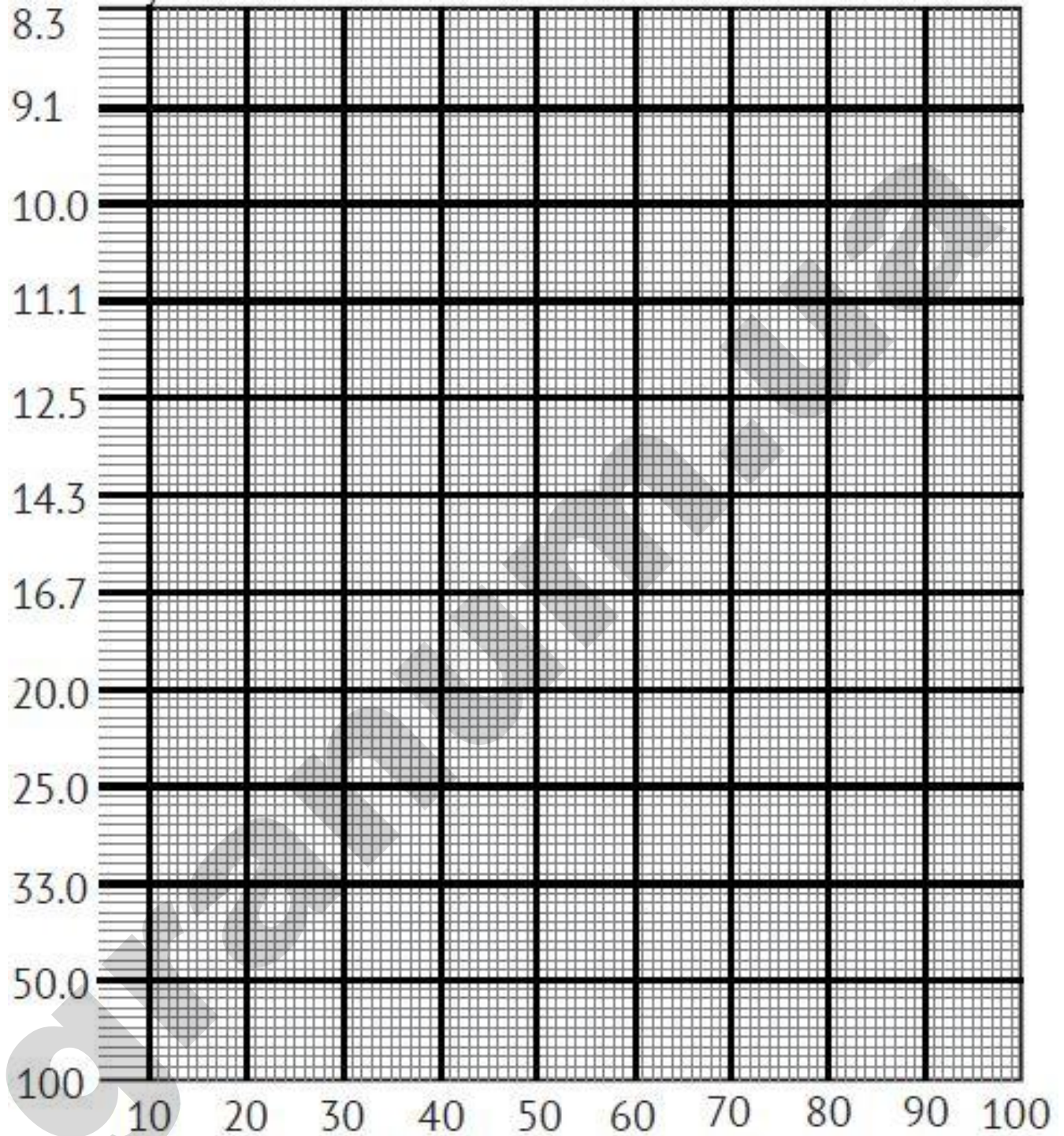
 **Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів**

Таблиця перерахунку ПВ в МНВ при чутливості тромбопластину (МІЧ) 1.00

ПВ	МНВ	ПВ	МНВ	ПВ	МНВ	ПВ	МНВ
0,7	0,7	2,6	2,6	4,5	4,5	6,4	6,4
0,8	0,8	2,7	2,7	4,6	4,6	6,5	6,5
0,9	0,9	2,8	2,8	4,7	4,7	6,6	6,6
1	1	2,9	2,9	4,8	4,8	6,7	6,7
1,1	1,1	3	3	4,9	4,9	6,8	6,8
1,2	1,2	3,1	3,1	5	5	6,9	6,9
1,3	1,3	3,2	3,2	5,1	5,1	7	7
1,4	1,4	3,3	3,3	5,2	5,2	7,1	7,1
1,5	1,5	3,4	3,4	5,3	5,3	7,2	7,2
1,6	1,6	3,5	3,5	5,4	5,4	7,3	7,3
1,7	1,7	3,6	3,6	5,5	5,5	7,4	7,4
1,8	1,8	3,7	3,7	5,6	5,6	7,5	7,5
1,9	1,9	3,8	3,8	5,7	5,7	7,6	7,6
2	2	3,9	3,9	5,8	5,8	7,7	7,7
2,1	2,1	4	4	5,9	5,9	7,8	7,8
2,2	2,2	4,1	4,1	6	6	7,9	7,9
2,3	2,3	4,2	4,2	6,1	6,1	8	8
2,4	2,4	4,3	4,3	6,2	6,2	8,1	8,1
2,5	2,5	4,4	4,4	6,3	6,3	8,2	8,2

Координатна сітка для побудови калібрувального графіка.

% протромбіну по Квіку



Час згорання, s (с)