



Інструкція
з використання реагенту
для визначення протромбінового часу
ТРОМБОПЛАСТИН з кальцієм розчинний

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 25-50 визначень при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Принцип методу

Тромбопластин (фактор III, тромбokinаза) перетворює протромбін плазми крові в присутності іонів кальцію в активний фермент тромбін, що трансформує фібриноген плазми крові в нерозчинний фібрин. Вимірюється протромбіновий час - час утворення фібрину в плазмі крові в присутності іонів кальцію і тромбопластину (розчинного екстракту з мозку кролика).

Призначення

Призначений для оцінки протромбінового часу згортання. Вимірювання проводять на коагулометрі або мануально. Визначення протромбінового часу використовується для тестування факторів протромбінового комплексу (II - протромбін, V, VII, X) і контролю за лікуванням антикоагулянтами непрямой дії. При відсутності коагулометра Тромбопластин може бути використаний для визначення рівня фібриногену за методом Рутберга.

Склад набору

1. Тромбопластин (ліофільно висушена тромбопластин-кальцієва суміш з кролячого мозку), на 5 ml (мл) суспензії (25 визначень) - 1 фл.
2. Інструкція з використання.
3. Паспорт.

Для отримання контрольних значень протромбінового часу згортання слід використовувати пул бідної тромбоцитами плазми, отриманої від 3-5 практично здорових людей.

Аналітичні характеристики

Лінійність визначення протромбінового часу - в діапазоні від 12 до 70 s (с). Коефіцієнт варіації результатів визначення протромбінового часу не перевищує 6%. Допустимий розкид результатів визначення протромбінового часу в одній пробі плазми крові різними реагентами однієї серії не перевищує 10%.

Перелік необхідного устаткування

- коагулометр (при відсутності коагулометра - секундомір, водяна баня на 37°C);
- центрифуга лабораторна;
- піпетки місткістю 0.1, 0.2, 0.25 і 5.0 ml (мл);
- пробірки скляні.

Підготовка зразків

Кров для дослідження забирають з ліктьової вени в пластикову або силіконовану пробірку, що містить 3.2% розчин натрію лимоннокислого трьох заміщеного (цитрату натрію), співвідношення об'ємів крові і цитрату натрію - 9:1. Кров центрифугують при 3000-4000 г/min (об/хв) (1200g) 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 більше 2 h (год) тому, а також замороженої плазми крові.

Підготовка реагентів

1. Розведення тромбопластину.

У флакон з тромбопластином внести 5.0 ml (мл) дистильованої води. Флакон струсити і витримати при 37°C (на водяній бані або в термостаті коагулометра) протягом 20 min (хв) перед кожним визначенням розведений реагент необхідно перемішувати, щоб уникнути випадіння осаду.

2. Отримання контрольної плазми

Варіант 1: Бідна тромбоцитами плазма, отримана за описаним методом (див. вище розділ «Підготовка зразків») від 3-5 практично здорових донорів, змішується в рівній пропорції.

Варіант 2: Може бути також використана атестована комерційна контрольна нормальна плазма.

Контрольну плазму використовувати для отримання нормативних даних і контролю активності розведеного тромбопластину.

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) розведеного тромбопластину, що має температуру 37°C і почати відлік часу згортання до утворення фібрину.

Аналогічно визначити протромбіновий час в зразках плазми хворих.

У нормі протромбіновий час, виміряний на коагулометрі, становить 13-19 s (с), при мануальній техніці визначення - 14-20 s (с).

Оцінка результатів

Результат виражають за одним з наступних варіантів:

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

2. Розраховують протромбінове відношення (ПВ) за формулою:

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

В нормі ПВ складає 0.9-1.3.

3. Розраховують протромбіновий індекс (ПТІ) в % за формулою:

$$ПТІ = \frac{ПЧ \text{ контрольної плазми}}{ПЧ \text{ хворого}} \times 100$$

При контролі за лікуванням непрямыми антикоагулянтами необхідно використовувати показник МНВ. У хворих, які отримують непрямі антикоагулянти, ПТІ становить 35-60%, а ПЧ збільшується приблизно в 2 рази в порівнянні з контрольною нормальною плазмою.

4. Визначають протромбіновий показник по Квіку (див. Координатна сітка для побудови калібрувального графіка). У нормі показник по Квіку при використанні Тромбопластина більше 60%.

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

Графік будують шляхом вимірювання протромбінового часу згортання в розведеннях контрольної нормальної плазми, приготованої 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 розморожуватися 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 схеми:

Приготування калібрувальних розведень контрольної плазми

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

З кожною пробой (№ 1-4) двічі визначають протромбіновий час, як описано вище (див. п. 2. Проведення аналізу). Отримані середні значення наносять на горизонтальну вісь калібрувальної сітки. На вертикальну вісь цієї ж сітки наносять значення протромбіна в розведеннях контрольної плазми,

наприклад, 100, 50, 25 і 12.5%.

Через отримані на перетинах точки проводять калібрувальну пряму.

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 реагенту "Тромбопластином з кальцієм розчинним" більше 60%. При лікуванні непрямими антикоагулянтами оптимальний рівень показника знаходиться в діапазоні від 20 до 40%.

Визначення концентрації фібриногену (за Рутбергом)

У разі неможливості в лабораторії визначення концентрації фібриногену по Клауссу, тромбопластин може бути використаний для визначення концентрації фібриногену за Рутбергом. Для виконання методу додатково потрібно кальцій хлорид (5.54% розчин).

Хід визначення:

1. У пробірці послідовно змішати 1.0 ml (мл) досліджуваної бідної тромбоцитами плазми крові, 0.1 ml (мл) суспензії Тромбопластину і 0.1 ml (мл) 5.54% розчину кальцію хлориду.
2. Пробірку струсити і помістити на водяну баню при температурі 37°C.
3. Через 10 min (хв) утворений згусток перенести на фільтрувальний папір і висушити шляхом стиснення і переміщення згустку по фільтру. Висушування проводити до втрати на фільтрі слідів вологи.
4. Згусток фібрину витримати на відкритому повітрі при кімнатній температурі 18-25°C протягом 15-20 min (хв) і зважити на торсійних вагах.

У нормі маса згустку, отриманого з 1 ml (мл) плазми крові, становить 10-20 mg (мг).

Зміст фібриногену в g/l (г/л) знаходять при множенні маси сухого фібрину на коефіцієнт 0.2.

У нормі вміст фібриногену в плазмі становить 2.0-4.0 g/l (г/л).

Зберігання та стабільність

Флакони з тромбопластином розраховані на 25-50 аналізів при витраті реагенту по 0.2-0.1 ml (мл) на 1 аналіз. Зберігання реагенту має проводитися при температурі 2-8°C протягом усього терміну придатності 24 mth (міс). Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Розведений тромбопластин 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 свіжо отриману плазму 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 середньодобовій 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 24 mth (міс) з дня виготовлення реагенту.

Література

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. - 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. - СПб.: ФормаТ, 2006. - 208 с.



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

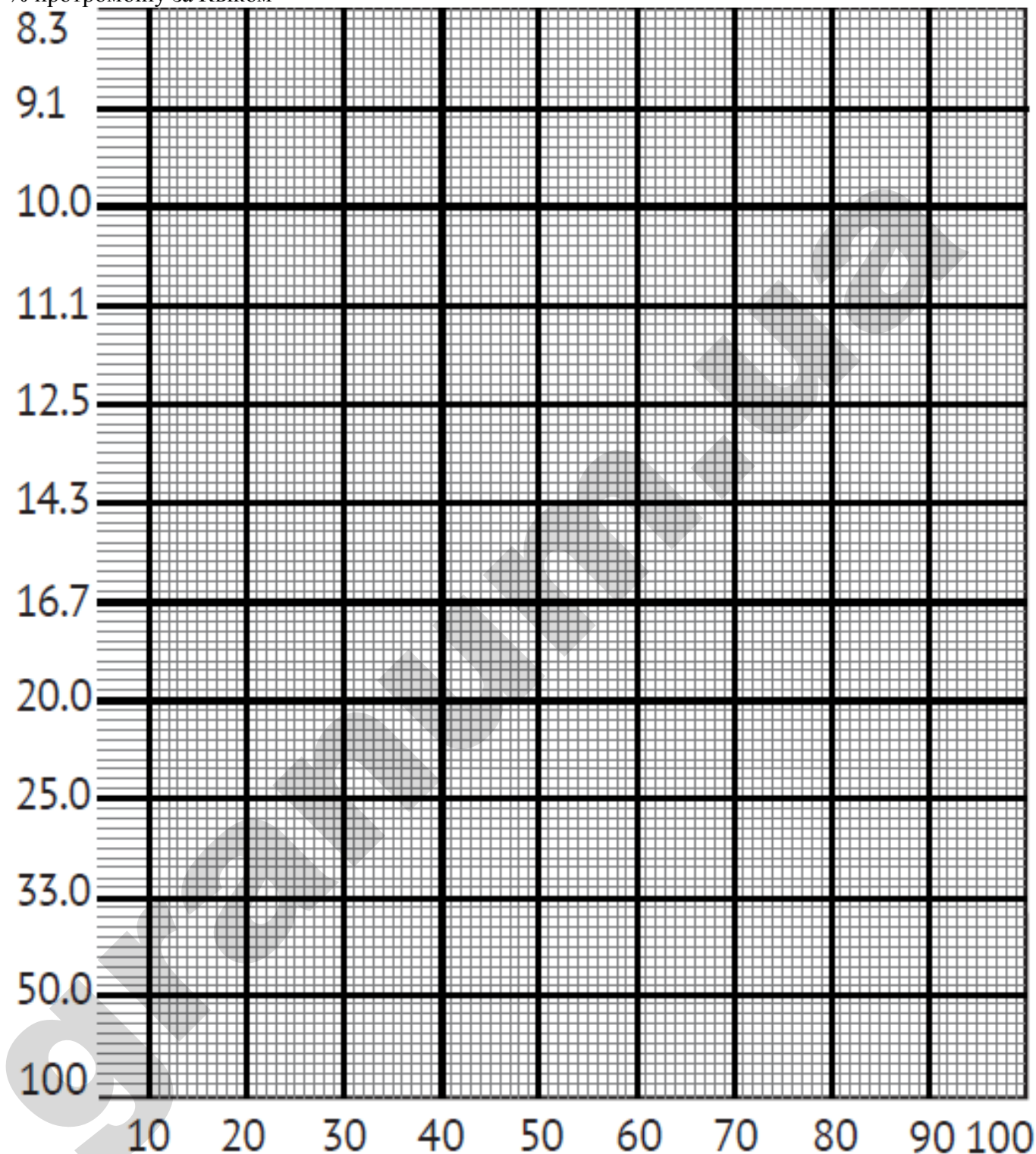
Символи на продукції

 **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

Координатна сітка для побудови каліброваного графіку

% протромбіну за Квіком



Час згортання s (с)