



Код	4011P80	4x4 ml
Код	4011P200	10x4 ml
Код	4011P4x10	4x10 ml
Код	4011P500	10x10 ml

Только для диагностики «in vitro»

Хранить при 2-8°C

ПРОТРОМБИНОВЫЙ ТЕСТ

НАЗНАЧЕНИЕ

Протромбиновый тест предназначен для оценки протромбинового времени свертывания и используется для тестирования факторов протромбинового комплекса (II - протромбина, V, VII, X). Пригоден для мануального и автоматизированного определения.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тромбопластин (фактор III, тромбокиназа) превращает протромбин плазмы крови в присутствии ионов кальция в активный фермент тромбин, трансформирующий фибриноген плазмы крови в нерастворимый фибрин.

Протромбиновое время (ПВ) - время образования фибрина в плазме крови при оптимальном количестве кальция и избытке тканевого тромбопластина.

При таких условиях время образования сгустка фибрина зависит только от активности факторов протромбинового комплекса (факторов внешнего пути коагуляции - II, V, VII, X).

СОСТАВ НАБОРА

PT-Reagent

Лиофильно высушенная тромбопластин-кальциевая смесь в буфере, азид натрия в качестве консерванта.

Международный Индекс Чувствительности (МИЧ), номер лота и срок годности указаны на упаковке.

ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Реагенты набора стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке при хранении в оригинальной упаковке при температуре 2-8°C.

Восстановленный PT-Reagent стабилен в течение 5 дней при температуре +2...+8°C.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

Нормальная и патологическая плазма для контроля качества исследования (Coaculo-Cont N, Coaculo-Cont P).

Коагулометр. Таймер.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Тестируемая плазма должна быть приготовлена из цельной цитратной крови. Не использовать гепарин, ЭДТА или оксалат в качестве антикоагулянта.

Сбор крови: Набрать кровь в пластиковую пробирку, содержащую 3,8% цитрата натрия.

Соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1.

Приготовление плазмы: Кровь центрифугировать при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови. Плазму перенести в пластиковую пробирку сразу же после центрифугирования.

Хранение плазмы: Образцы плазмы хранить при 18-26°C ≤ 2 часов, при 2-8°C ≤ 4 часов, замороженной при -20°C до 2 месяцев, при -70°C - до 6 месяцев.

После заморозки образцы должны быть быстро разморожены и немедленно протестированы.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для диагностики in vitro.

Во избежание возможного инфицирования, необходимо соблюдать стандартную лабораторную практику работы с потенциально опасными образцами, и обрабатывать их как инфекционные.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА

Во флакон с PT-Reagent добавьте объем дистиллированной воды, указанный на этикетке флакона.

Закройте крышку и тщательно перемешайте содержимое флакона.

Перед использованием, для полной гидратации содержимого, инкубируйте не менее 15 минут.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальную и патологическую плазму.

Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Процедура описана для мануального определения и полуавтоматических коагулометров.

В случае определения на коагулометре, следуйте инструкции к анализатору.

1. Предварительно инкубируйте восстановленный реагент при температуре 37°C 10 минут. Перемешайте суспензию непосредственно перед использованием.
2. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 100 µl образца.
3. Инкубируйте при температуре +37°C 1 мин.
4. Добавьте 200 µl разведенного PT-Reagent, имеющего температуру +37°C, и одновременно включить секундомер для отсчета времени свертывания до образования сгустка фибрина.
5. Определите время образования сгустка в секундах.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальную и патологическую контрольную плазму с аттестованными показателями определяемых параметров.

Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

РАССЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рассчитайте среднее время образования сгустка дубликатов образцов и контролей. Разница между результатами дубликатов должна быть менее 5%. Повторите тест, если это необходимо.

Результат выражают по одному из следующих вариантов:

1. Отмечают Протромбиновое Время (ПВ) в секундах у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.

2. Рассчитывают Протромбиновое отношение (ПО) по формуле:

$$ПО = \frac{\text{ПВ больного}}{\text{ПВ контрольной плазмы}}$$

ПВ контрольной плазмы - время образования сгустка в нормальной плазме. Специфично для каждого лота. Определяется каждой лабораторией и зависит от используемого оборудования.

3. Рассчитывают Международное нормализованное отношение (МНО), International Normalized Ratio (INR)

Для расчета МНО используется следующая формула:

$$МНО = ПО^{МИЧ}$$

или по таблице расчета МНО, приведенной для **каждого лота**.

МИЧ = международный индекс чувствительности тромбопластина, специфичный для каждого лота

4. Определяют активность протромбинового комплекса по Квику (% от нормы)

Для определения активности протромбинового комплекса по Квику (%) следует построить калибровочный график зависимости ПВ (сек) от активности факторов протромбинового комплекса нормальной плазмы (%).

Подготовить разведения нормальной плазмы:

№ пробы	Плазма и ее разведения	Физиологический + раствор	Разведение	Протромбин нормальной плазмы, %
1	0,25 мл	+ 0,0 мл	-	100
2	0,25 мл	+ 0,25 мл	1+1	50
3	0,25 мл пробы 2	+ 0,25 мл	1+3	25

ПВ каждого разведения плазмы (сек) отложить на оси абсцисс (X), % протромбина по Квику на оси ординат (Y).

ОГРАНИЧЕНИЯ

- ✓ Для предотвращения ложных результатов гарантируйте соотношение крови и антикоагулянта 9:1.
- ✓ Образцы не должны контактировать со стеклом.
- ✓ Не инкубируйте образцы при 37°C дольше, чем 5 минут для предотвращения потери V и VII фактора. Потеря V фактора может вести к удлинению ПВ.
- ✓ Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 часов назад.
- ✓ ПВ может быть удлинено рядом веществ, включая кортикостероиды, ЭДТА, оральные контрацептивы, аспарагиназа, клофибрат, эритромицин, этанол, тетрациклин и антикоагулянты, такие как гепарин и кумарин. Укорочение ПВ вызывают антигистамины, фенобарбитал, кофеин и витамин К.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Результаты определения ПВ зависят от метода регистрации времени образования сгустка и могут варьировать от лаборатории к лаборатории.

В общем, ПВ тест, выполненный с нормальной плазмой, будет давать время образования сгустка в пределах 13-15 секунд на фотооптическом коагулометре, от 11 до 15 секунд на механическом коагулометре и 12-15 секунд при мануальном определении.

У новорожденных младенцев ПВ удлинено на 2-3 сек, у недоношенных младенцев – на 3-5 сек.

Тем не менее, каждая лаборатория должна установить нормальный ранг, используя индивидуальные плазмы пациентов, репрезентативные для своей популяции.

Новый нормальный ранг должен устанавливаться при любых изменениях инструментальной техники, техники взятия крови или антикоагулянта.

Ранг среднего нормального ПВ должен устанавливаться заново или проверяться при смене лота реагента.

ПО 0,8-1,3
МНО ~ 1 *

*) Референтные значения изменяются в зависимости от МИЧ тромбопластина

Лечение венозного тромбоза, легочной эмболии, заболевания клапанов сердца: МНО 2,0-3,0

Лечение артериальной тромбоэмболии, рецидивирующей системной эмболии искусственные клапаны сердца: МНО 3,0-4,5

Данные величины ориентировочны, рекомендуется определение собственных нормальных величин в каждой лаборатории.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Воспроизводимость:

для контроля воспроизводимости внутри ранга были использованы нормальная и абнормальные трехуровневые плазменные контроли: уровень 1, уровень 2 и уровень 3. Измерения проводились на оптическом и механическом анализаторе.

Результаты представлены в следующей таблице:

Образец	Оптический анализатор	Механический анализатор
Уровень 1	1,00%	1,07%
Уровень 2	0,31%	1,48%
Уровень 3	0,36%	1,08%

Корреляция:

исследование корреляции проводилось с использованием другого реагента для определения протромбина.

Результаты приведены в следующей таблице:

Коэффициент регрессии	Индекс совпадения кривых	Точка пересечения
0,91	1,01	0,01

ЛИТЕРАТУРА

1. Deykin, D. Anticoagulant therapy. In: Colman, R.W. Hirsh, J, Marder, V., Salzman, EW (Eds.); Haemostasis and Thrombosis, JB Lippincott, Philadelphia, 1982, p1000.
2. Errichette A.M. Holden A. Ansell J; Management of Oral Anticoagulant Therapy: experience with an Anticoagulation Clinic, Arch. Inter. Medicine 144; p 1966 (1984).
3. Hirsh J., Dalen J. E., Deykin D. Oral Anticoagulants: Mechanisms of Action, Clinical Effectiveness and Optimal Therapeutic Range, 1992, Chest 102 (Suppl): 312S-326S.
4. Miale JB; Laboratory Medicine-Hematology, 4th edition, CV Mosbe, St Louis, (1972).