

## Набор реагентов для определения протромбинового времени, протромбинового отношения, протромбинового индекса, процента протромбина по Квику и МНО в капиллярной крови

Определение протромбинового времени (ПВ) является одним из основных базовых тестов, используемых в повседневной клинической практике. Протромбиновое время (ПВ) используют в качестве скринингового-теста для выявления:

- коагуляционных нарушений во внешнем пути свертывания;
- для оценки функции печени;
- для контроля лечения антикоагулянтами непрямого действия.

Ренампластин – тромбопластинный реагент, аттестованный по Международному Индексу Чувствительности (МИЧ), предназначенный для определения протромбинового времени, протромбинового отношения, протромбинового индекса, процент протромбина по Квику и для определения Международного Нормализованного Отношения (МНО) в капиллярной крови и венозной плазме.

### Принцип метода

Измеряют время от момента добавления к капиллярной крови или плазме тромбопластина с кальцием до момента образования фибринового сгустка.

### Состав набора.

1. Ренампластин, лиофильно высушенный тромбопластинный реагент из мозга кроликов с добавлением кальция (4 мл) - 9 фл.
2. Консервант для капиллярной крови, концентрат (5 мл) - 1 фл.

### Приготовление и стабильность.

**1. Ренампластин.** Внести во флакон с лиофильно высушенным Ренампластином 4 мл дистиллированной воды и растворить при покачивании.

Перед проведением анализа раствор Ренампластина прогреть при температуре 37°C в течении 30 мин.

Стабильность Ренампластина после растворения.

18-22 °С	2-8 °С	-18-20 °С
2 дня	7 дней.	3 мес.

**2. Рабочий раствор консерванта для взятия капиллярной крови.** Концентрат консерванта для взятия капиллярной крови (5мл) развести дистиллированной водой в 10 раз (1 мл концентрата + 9 мл дистиллированной воды). Хранить при температуре 2 - 8°C не более 1 мес. Рекомендуется готовить на день работы.

### Чувствительность Ренампластина к гепарину.

Ренампластин не чувствителен к гепарину в дозе до 1МЕ/мл, что позволяет использовать данный реагент при гепаринотерапии.

### Получение материала для анализа.

1. Капиллярная кровь (КК).

Капилляром (объемом не менее 100 мкл) отобрать рабочий раствор консерванта для взятия капиллярной крови до метки и перенести его в пластиковую пробирку (например, эппендорф). После обработки мякоти пальца спиртом сделать прокол скарификатором. Удалить первую каплю крови ватным тампоном. Затем свободно выступающие капли крови отобрать тем же капилляром до той же метки, что и консервант (соотношение кровь : консервант 1:1). Кровь перенести в пластиковую пробирку с консервантом и перемешать пипетированием.

**До проведения анализа исследуемый материал допускается хранить при комнатной температуре в течение 8 часов.**

2. Плазма венозной крови (П).

Для клинико-диагностических лабораторий, использующих в качестве контроля свежий пул донорской плазмы, необходимо приготовить рабочий материал по следующей схеме:

венозную кровь взять на 3,8% (0,11 М) цитрате натрия (9:1), немедленно центрифугировать цитратную кровь при 3000 об/мин в течение 10 мин, сразу же перенести плазму в пластиковую или силиконированную стеклянную пробирку. Анализировать в течение 4 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -18-20 °С и хранение в течение 1 месяца.

**Использовать только пластиковые или силиконированные стеклянные пробирки**

### Проведение анализа.

Внести в кювету анализатора или в пробирку	
Капиллярная кровь (КК)	Плазма венозной крови (П)
75 мкл	50 мкл
Инкубировать при 37°C точно 2 мин.	
Внести Ренампластин, прогретый при 37°C	
50 мкл	100 мкл
Зафиксировать время свертывания на коагулологическом анализаторе* или с помощью секундомера.	

\*Возможно использование коагулологического анализатора любого типа.

### Выражение полученных результатов.

- Протромбиновое время (ПВ<sub>КК</sub>), в секундах.

- Процент протромбина по Квику, в %.

Для определения протромбина по Квику в % в исследуемой капиллярной крови необходимо в качестве калибратора использовать плазму контрольную с известным процентом протромбина по Квику (см. пункт Контроль качества).

Построить калибровочный график зависимости протромбинового времени (ПВ) от процента протромбина по Квику. Для этого разводят контрольную плазму физиологическим раствором по следующей схеме (точные значения протромбина в % (А) указываются в паспорте на контрольную плазму):

Протромбин контрольной плазмы в %	А%	0,5А%	0,25А%
Контрольная плазма	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл
Физиологический раствор	-	0,5 мл	1,5 мл

Для каждого разведения контрольной плазмы необходимо определить ПВ в секундах и нанести полученные значения на миллиметровую бумагу (см. оборот) - на горизонтальную ось абсцисс (Х). На вертикальную ось ординат (Y) следует нанести разведения плазмы - калибратора в %. Через полученные на пересечении точки провести калибровочный график, который должен представлять собой прямую линию. Для удобства работы на график нанесена также вторая ось (Y) с величинами, обратными значению протромбина (1/% протромбина) и таблица пересчета обратных величин.

В исследуемой капиллярной крови измерить протромбиновое время и по калибровочному графику определить величину обратную % протромбина (1/% протромбина). По таблице провести полученное значение в % протромбина по Квику. Если ПВ<sub>КК</sub> короче, чем ПВ неразбавленной контрольной плазмы, необходимо дополнительно развести капиллярную кровь физиологическим раствором в 2 раза и полученный после измерения результат умножить на 2.

- Протромбиновое отношение (ПО<sub>КК</sub>).

$$ПО_{КК} = \frac{ПВ_{КК}}{ПВ_{П}} \times ПО_{П} \times K_{Hct}, \text{ где}$$

ПВ<sub>П</sub> – протромбиновое время контрольной плазмы (не входит в состав набора) или свежего пула донорской плазмы.

ПО<sub>П</sub> – протромбиновое отношение в контрольной плазме (указано в паспорте на плазму), ПО свежего пула донорской плазмы принимают за 1.

K<sub>Hct</sub> – коэффициент, учитывающий гематокрит исследуемой капиллярной крови (см. таблицу)

Гематокрит%	15	20	30	35	40	45	50	60	70
K <sub>Hct</sub>	1,2	1,15	1,19	1,07	1,02	1,00	0,98	0,94	0,89

- Международное Нормализованное Отношение (МНО).

$$МНО_{КК} = ПО_{КК}^{МИЧ}, \text{ где}$$

МИЧ – Международный Индекс Чувствительности Ренампластина, указан в прилагаемом паспорте.

Таблица пересчета протромбинового отношения в МНО приведена в прилагаемом паспорте.

- Протромбиновый индекс (ПИ<sub>КК</sub>).

$$ПИ_{КК} = \frac{ПВ_{П}}{ПВ_{КК}} \frac{ПИ_{П}}{K_{Hct}} \%, \text{ где}$$

ПИ<sub>П</sub> – протромбиновый индекс в нормальной донорской плазме (указано в паспорте на плазму);

### Стандартизация Ренампластина.

Каждая серия Ренампластина стандартизована против вторичного международного стандарта с использованием плазм пациентов, получающих антикоагулянтную терапию. Стандартизация осуществляется по процедуре, утвержденной ВОЗ.

МИЧ каждой серии Ренампластина указан в паспорте на набор.

### Нормальная область.

Протромбиновое время – 14 – 18сек.

Процент протромбина по Квику – 70 – 130%.

Международное Нормализованное Отношение – 0.8 – 1.2.

Протромбиновый индекс – 80 – 120%

**Терапевтическая область.** При лечении непрямыми антикоагулянтами оптимум достигается при значениях:

Показания	Рекомендуемая терапевтическая область МНО	% протромбина по Квику для Ренампластина
Тромбоз глубоких вен Легочная эмболия Инфаркт миокарда	2.0 – 3.0	50 - 30
Искусственные клапаны сердца Рекуррентная системная эмболия	3.0 – 4.5 или 2.5 – 3.5	30 – 20 или 35 - 25

Срок годности набора – 24 месяца.

### Контроль качества.

Нормальные и патологические значения протромбинового времени следует контролировать с помощью контрольных плазм НПО РЕНАМ:

Плазма контрольная на 4 параметра (Плазмы Н) код КМ-1

Плазма контрольная на 11 параметров код КМ-2

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2.

Таблица пересчета значений % протромбина в 1/%протромбина

% протромбина по Квику	10	12,5	13,2	13,9	14,7	15,2	15,6	16,1	16,7	17,2	17,9	18,5	19,2	20	21	22	23	24	25
1/% протромбина по Квику	0,1	0,08	0,076	0,072	0,068	0,066	0,064	0,062	0,060	0,058	0,056	0,054	0,052	0,05	0,048	0,046	0,044	0,042	0,04
% протромбина по Квику	25,5	26,5	27	28	28,5	29,5	30,5	31,5	32,5	33,5	34,5	35,5	40	45,5	50	63	71	83	100
1/% протромбина по Квику	0,039	0,038	0,037	0,036	0,035	0,034	0,033	0,032	0,031	0,030	0,029	0,028	0,025	0,022	0,020	0,016	0,014	0,012	0,01

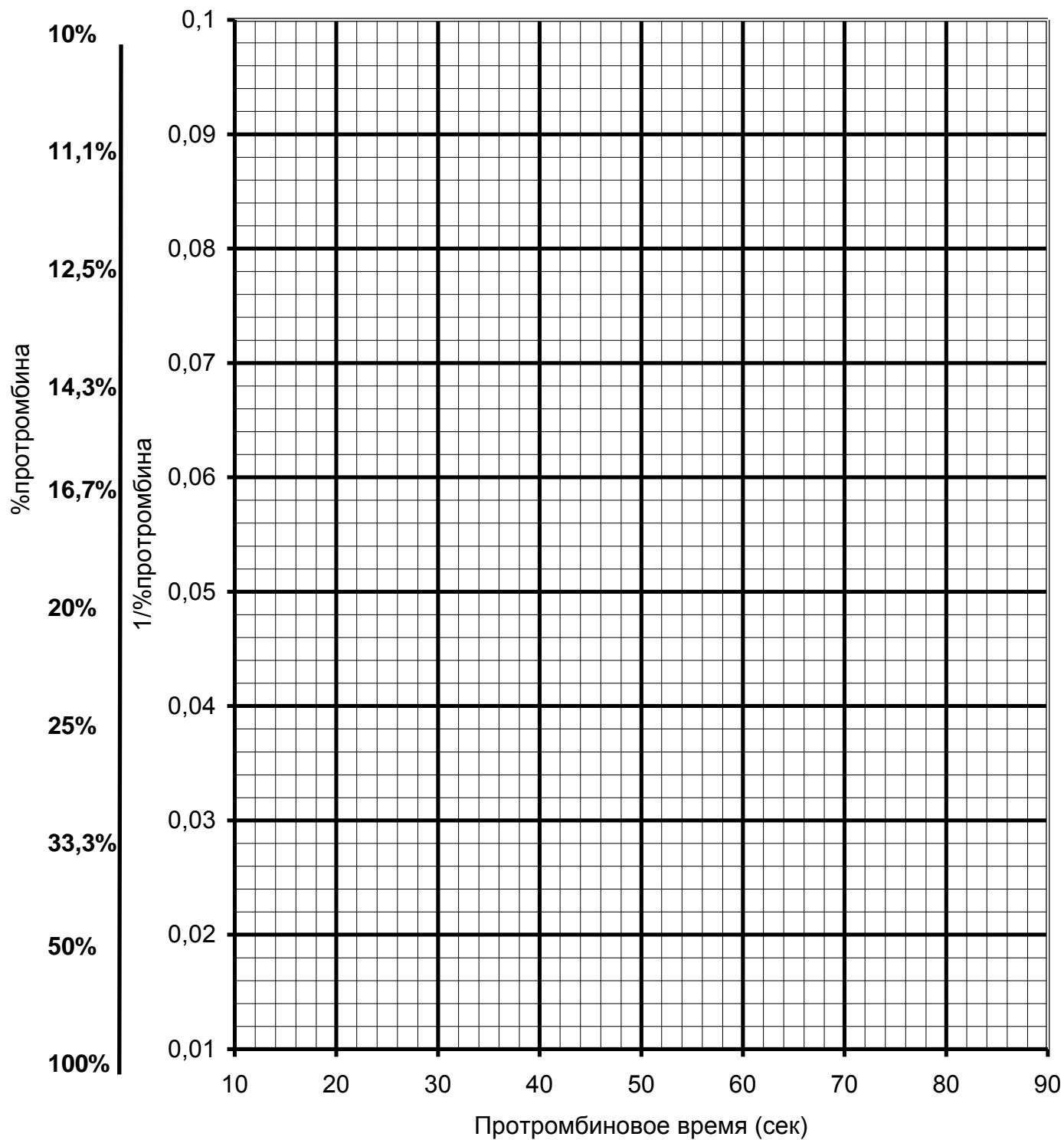


Таблица для расчета МНО на основании ПО при МИЧ= **1,20**

ПО	МНО	ПО	МНО	ПО	МНО	ПО	МНО	ПО	МНО
0,85	0,82	1,60	1,76	2,35	2,79	3,10	3,89	3,85	5,04
0,90	0,88	1,65	1,82	2,40	2,86	3,15	3,96	3,90	5,12
0,95	0,94	1,70	1,89	2,45	2,93	3,20	4,04	3,95	5,20
1,00	1,00	1,75	1,96	2,50	3,00	3,25	4,11	4,00	5,28
1,05	1,06	1,80	2,02	2,55	3,08	3,30	4,19	4,05	5,36
1,10	1,12	1,85	2,09	2,60	3,15	3,35	4,27	4,10	5,44
1,15	1,18	1,90	2,16	2,65	3,22	3,40	4,34	4,15	5,52
1,20	1,24	1,95	2,23	2,70	3,29	3,45	4,42	4,20	5,60
1,25	1,31	2,00	2,30	2,75	3,37	3,50	4,50	4,25	5,68
1,30	1,37	2,05	2,37	2,80	3,44	3,55	4,57	4,30	5,76
1,35	1,43	2,10	2,44	2,85	3,51	3,60	4,65	4,35	5,84
1,40	1,50	2,15	2,51	2,90	3,59	3,65	4,73	4,40	5,92
1,45	1,56	2,20	2,58	2,95	3,66	3,70	4,81	4,45	6,00
1,50	1,63	2,25	2,65	3,00	3,74	3,75	4,88	4,50	6,08
1,55	1,69	2,30	2,72	3,05	3,81	3,80	4,96		