



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Плазмы-калибратора для определения МНО и протромбина по Квику (Протромбин – калибратор)

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент Протромбин-калибратор предназначен для определения среднего нормального протромбинового времени (ПВ_{100%}) при выражении результатов определения протромбинового времени (ПВ) в виде Международного Нормализованного Отношения (МНО), а также для построения калибровочного графика зависимости ПВ, сек, от протромбина по Квику, %.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

Протромбин-калибратор, пул плазмы, полученный от не менее 20 доноров в возрасте 20-40 лет, стабилизированный НЕРЕС-цитратным буфером, лиофильно высушенный и аттестованный против референсных сертифицированных плазм – 1, 3 или 6 флаконов.

Флаконы силиконированы для предотвращения контактной активации.

Число анализируемых проб

Один флакон Протромбин-калибратора предназначен для проведения 20 анализов при расходе 50 мкл реагента на один анализ.

Принцип метода. Методика определения протромбина по Квику основана на построении калибровочного графика и должна выполняться в соответствии с инструкциями производителей наборов реагентов с учетом требований производителей анализаторов. По калибровочному графику определяют значение протромбина по Квику, %, в плазме крови пациента. Среднее нормальное протромбиновое время (ПВ_{100%}), необходимое для выражения результатов определения ПВ в виде МНО, представляет собой среднее геометрическое результатов определения ПВ в плазмах не менее 20 здоровых доноров. ПВ_{100%} рассчитывают, определив величину ПВ в Протромбин-калибраторе и используя значение ПО, указанное в паспорте на Протромбин-калибратор.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Растворимость лиофильно высушенного реагента в дистиллированной воде при комнатной температуре (18-25°C) не более 60 сек.

Активность протромбина по Квику реагента при анализе ПВ с Ренампластином в диапазоне 90-110%. ПО реагента при анализе ПВ с Ренампластином в диапазоне 0,9-1,1.

Допустимое отклонение активности реагента от аттестованного значения ПО и протромбина по Квику – не более 10%.

Коэффициент вариации и межфлаконная вариация результатов определений - не более 10%.

Линейность определений протромбина по Квику – от 25 до 100%.

Точность определений – реагент аттестован по ПО и протромбину по Квику, %, против свежего пула донорской плазмы, протромбин по Квику в котором принят за 100%, или против референсных сертифицированных плазм ведущих мировых производителей с помощью тромбопластиновых реагентов, аттестованных по МИЧ.

Все расчеты проведены в соответствии с рекомендацией Clinical and Laboratory Standards Institute WHO (document H54-A, vol/ 25, N 23, Replaces H54-P, vol.24, N 30), 2005.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Данный реагент предназначен только для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения реагента – класс 2а.

При работе с реагентом следует соблюдать «Инструкцию по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (утверждена Министерством здравоохранения СССР 17.01.1991 г.). Каждая доза донорской крови, использованная для получения пула при изготовлении Протромбин-калибратора, проверена на отсутствие поверхностного антигена вируса гепатита В, на антитела к вирусу гепатита С, на антитела к ВИЧ 1 и к ВИЧ 2. Для получения пула использована только кровь, не содержащая этих агентов. Однако ввиду невозможности доказать их полное отсутствие плазма должна рассматриваться как потенциально инфицированная, способная сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В и С или любой другой возбудитель вирусной инфекции. При работе с исследуемыми образцами следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Коагулологический анализатор любого типа с набором пластиковых кювет;
- наборы реагентов Ренампластин, Тромбопластин или Диагем П;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие дозировать 20-200 и 200-1000 мкл;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор;
- перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Раствор Протромбин-калибратора анализируют до проведения серии исследований плазмы пациентов.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приготовление Протромбин-калибратора

Внести во флакон с Протромбин-калибратором 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор Протромбин-калибратора нужно выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течение 20 мин.

Приготовление Ренампластина и Тромбопластина

Ренампластин и Тромбопластин приготовить, как описано в Инструкциях к соответствующим наборам.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для выражения результатов определения ПВ в виде МНО измерить ПВ Протромбин-калибратора с использованием наборов реагентов Ренампластин, Тромбопластин, Диагем П, по инструкции, прилагаемой к наборам, далее провести математический расчет протромбинового отношения и МНО.

Для определения протромбина по Квику Протромбин-калибратор развести физиологическим раствором следующим образом:

Протромбин по Квику в Протромбин-калибраторе, %	A*%	0,5 A %	0,25 A %
Протромбин-калибратор, мл	0,5	0,5	0,5
Физиологический раствор, мл	-	0,5	1,5

*A – аттестованное значение % протромбина по Квику в Протромбин-калибраторе (указывается в паспорте).

Далее определить ПВ каждого разведения, согласно инструкции по применению соответствующих наборов реагентов и анализаторов.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить ПВ в Протромбин-калибраторе от момента добавления тромбопластина с кальцием до момента образования фибринового сгустка.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Построить калибровочный график зависимости ПВ, сек, (ось X) от величины, обратной протромбину по Квику, % (ось Y).

Для каждой серии реагентов должна быть построен свой калибровочный график.

Протромбина по Квику, %, в исследуемой плазме пациента определить по калибровочному графику.

МНО вычислить по формуле:

$$MHO = \left(\frac{PB_n}{PB_{100\%}} \right)^{MIC} \quad \text{где:}$$

ПВ_n – ПВ исследуемой плазмы пациента, сек.

ПВ_{100%} – среднее нормальное ПВ, сек.

МИЧ – Международный Индекс Чувствительности, указанный в паспорте на тромбопластин.

Так как Протромбиновое Отношение Протромбин-калибратора (ПО_{ПК}) равно:

$$PO_{ПК} = \frac{PB_{ПК}}{PB_{100\%}}, \quad \text{то} \quad PB_{100\%} = \frac{PB_{ПК}}{PO_{ПК}}, \quad \text{а}$$

$$MHO = \left(\frac{PB_n}{PB_{ПК}} \times PO_{ПК} \right)^{MIC}, \quad \text{где}$$

ПВ_{ПК} – ПВ Протромбин-калибратора, сек.

ПО_{ПК} – протромбиновое отношение Протромбин-калибратора.

Точные значения протромбина по Квику, %, и ПО_{ПК} для Ренампластина и Тромбопластина указаны в паспорте на Протромбин-калибратор.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно проводиться при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25°C в течение 10 сут. Замораживание реагента допускается.

Срок годности со дня изготовления лиофильно высушенного Протромбин-калибратора – 18 мес.

Приготовленный раствор Протромбин-калибратора можно хранить во флаконе изготовителя:

- не более 4 ч при температуре 2-8°C

- не более 2 ч при комнатной температуре.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагента.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СП № 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с МУЛЬТИКАЛИБРАТОРОМ с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу опасности Б.

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на ¾, завязывают, маркируют надписью: «Отходы. Класс Б», наносят на бирку название организации, дату и ФИО исполнителя и помещают на участок временного хранения до вывоза транспортом специального подразделения к месту обеззараживания и утилизации.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу:

125167 Москва, Нарышкинская аллея, д.5, стр.2,

тел/факс (495) 225-12-61, (499)707-76-30,

e-mail: info@renam.ru.

