

Работа на автоматических коагулометрах с использованием реагентов отечественного производства

Автоматический коагулометр HELENA модель АС 4



Авторы: Козлов А.А., Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Кишинец Р.С., Тихомирова К.В.,
Бабенко С.В.

Применение реагентов торговой марки «Ренам» для работы на автоматическом
коагулометре Helena AC 4

Методическое руководство

применение автоматических коагулометров позволяет избежать большинства ошибок на аналитическом этапе исследования системы гемостаза. Производитель выпускаемых коагулометров рекомендует применение реагентов определенного производителя. Но зачастую возникают ситуации, при которых лаборатория остается без вышеуказанных реагентов (недостаточность финансирования лаборатории, задержка в поставках рекомендуемых реагентов). Все это приводит к поиску альтернативных реагентов с целью бесперебойной работы лаборатории и сохранения качества коагулологических исследований.

Данное методическое руководство предназначено для сотрудников клинико-диагностических лабораторий, исследующих систему гемостаза. В руководстве детально описаны принципы адаптации и работы на приборе Helena AC 4 с использованием реагентов производства НПО «Ренам» .

Оглавление

Рутинные исследования:.....	4
Определение протромбинового времени (РТ)	4
Определение активированного частичного тромбопластинового времени (АРТТ)	15
Определение уровня фибриногена по Клауссу (FIB).....	17
Определение тромбинового времени (ТСТ).....	25

Рутинные исследования:

Определение протромбинового времени (РТ)

Серия приборов Helena AC 4 является условно открытой системой для использования на них реагентов, отличающихся от рекомендованных производителем приборов. Для оценки протромбина по Квику и МНО с помощью коагулометра Helena AC 4 НПО РЕНАМ рекомендует использовать Ренампластин (кат. № ПГ-5/1).

В качестве калибровочной плазмы рекомендуется использовать плазму-калибратор «Протромбин-калибратор» (кат. № КМ-18). Также возможно использование плазмы-калибратора «Мультикалибратор» (кат. № КМ-16)

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма Н» (кат. № КМ-1), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной области.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма патологическая» (кат. № КМ-3).

Для подтверждения правильности определения МНО при контроле за применением непрямых антикоагулянтов рекомендуется применять контрольную плазму «Протромбин-контроль» (кат. № КМ-17)

Пример инструкции к реагенту Ренампластин

Стандартизованный по Международному Индексу Чувствительности реагент для определения протромбинового времени.

Определение протромбинового времени – это высокочувствительный и простой скрининговый тест, который выявляет нарушения во внешнем пути свертывания крови (ф. II, V, VII и X) и рекомендуется для:

- мониторинга терапии непрямыми антикоагулянтами;
- диагностики наследственных и приобретенных коагулопатий;
- диагностики заболеваний печени.

Ренампластин – тромбопластин-кальциевый реагент, водорастворимый, полученный из мозга кроликов и аттестованный по Международному Индексу Чувствительности (МИЧ), предназначен для определения протромбинового времени в плазме венозной крови. Результаты определения могут быть выражены в значениях Международного Нормализованного Отношения (МНО), протромбина по Квику и протромбинового индекса.

Реагент

Ренампластин (8 мл) – код ПГ-5/1.

Принцип метода

При добавлении к цитратной плазме избытка тканевого тромбопластина и ионов кальция время образования сгустка фибрина зависит только от активности факторов внешнего и общего пути коагуляции: I, II, V, VII, X. Измеряют время от момента добавления к плазме тромбопластина с кальцием до момента образования фибринового сгустка.

Приготовление и стабильность

Ренампластин. Внести во флакон с лиофильно высушенным Ренампластином 8 мл дистиллированной воды и растворить при покачивании.

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

Стабильность Ренампластина

+37°C	+18-25°C	+2-8°C	-18-20°C
8 часов	2 дня	7 дней	3 месяца

Получение исследуемой плазмы для анализа

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия, центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Время хранения образцов плазмы при комнатной температуре – не более 4 часов, не допускается хранение образцов при +2-8°C до проведения анализа в связи с возможностью холодовой активации ф. VII. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

Меры предосторожности

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать перчатки медицинские диагностические одноразовые, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В и С или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Программирование прибора

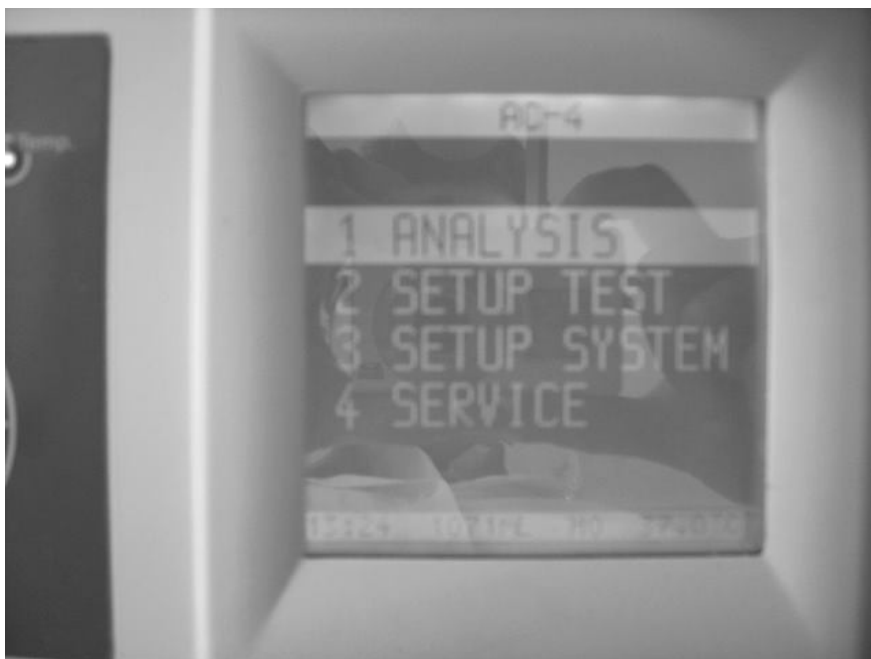
Определение протромбинового времени проходит по стандартному протоколу РТ.

В качестве реагента РТ выступает Ренампластин.

На борту нужно использовать позицию, которая запрограммирована для РТ (позиция 25). Для проведения калибровки физиологический раствор устанавливается в позицию 39. Плазма калибратор устанавливается в штатив для образцов (Rack).

Построение калибровочной кривой

1) Выйдите в главное меню.



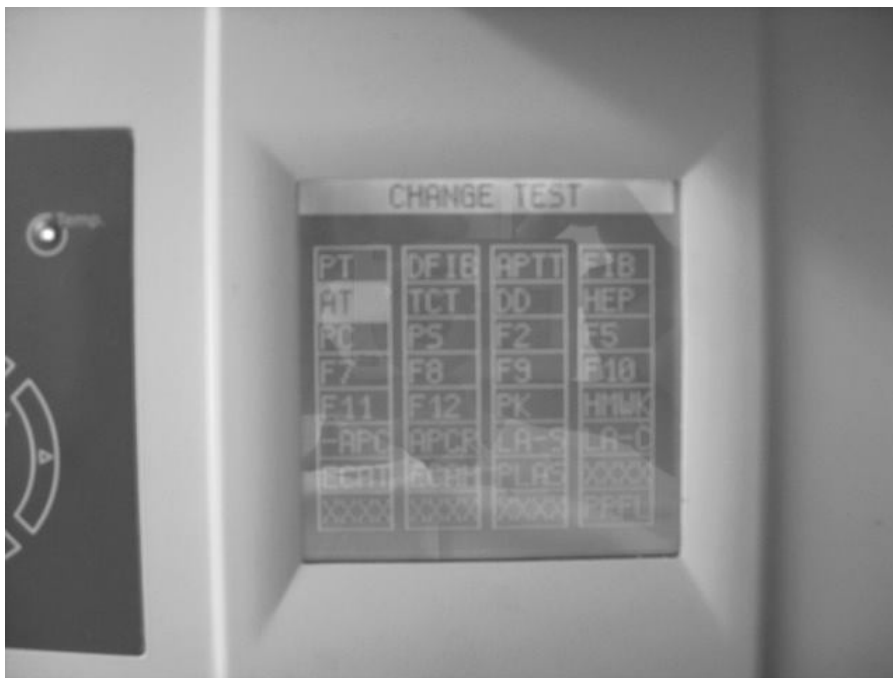
Нажмите цифру 2

2) Появится новое меню



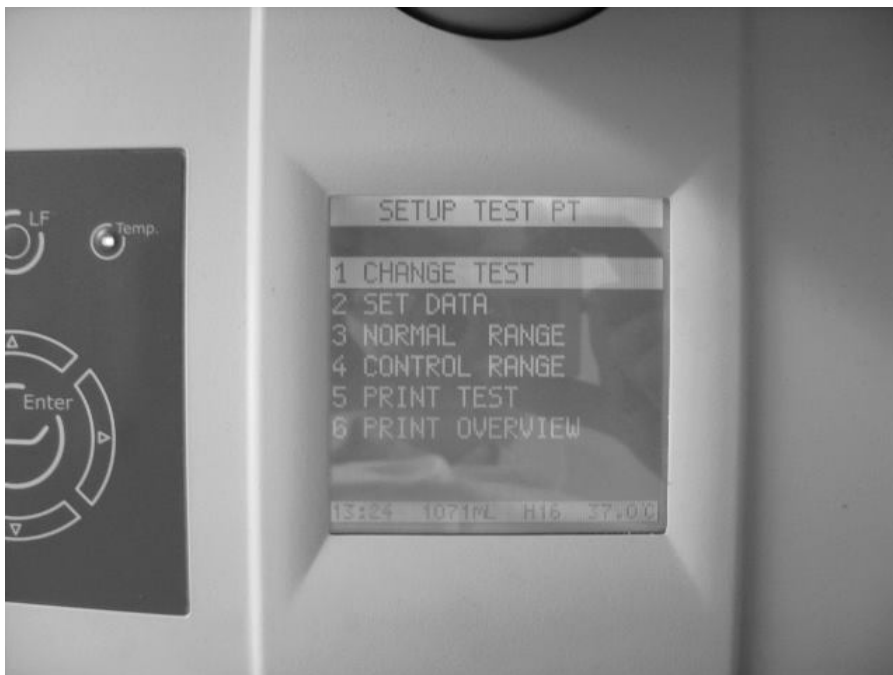
Нажмите цифру «1».

3) Появится новое меню



Используя клавиши вверх, вниз, влево и вправо наведите курсор на тест PT и нажмите Enter.

4) Появится новое меню



Нажмите цифру 2.

5) Появится новое меню



Строка «TEST»-недоступна.

В строку «LOT»-введите серию (лот) реактива.

В строку «EXP»-введите срок годности реактива

В строке «UNIT»- выберите единицы измерения для калибруемого теста. (Пример: для протромбинового времени –проценты по Квику (%))

В строке «INCUB» - 120 сек.

В строке «RUNTIME»- 120 сек.

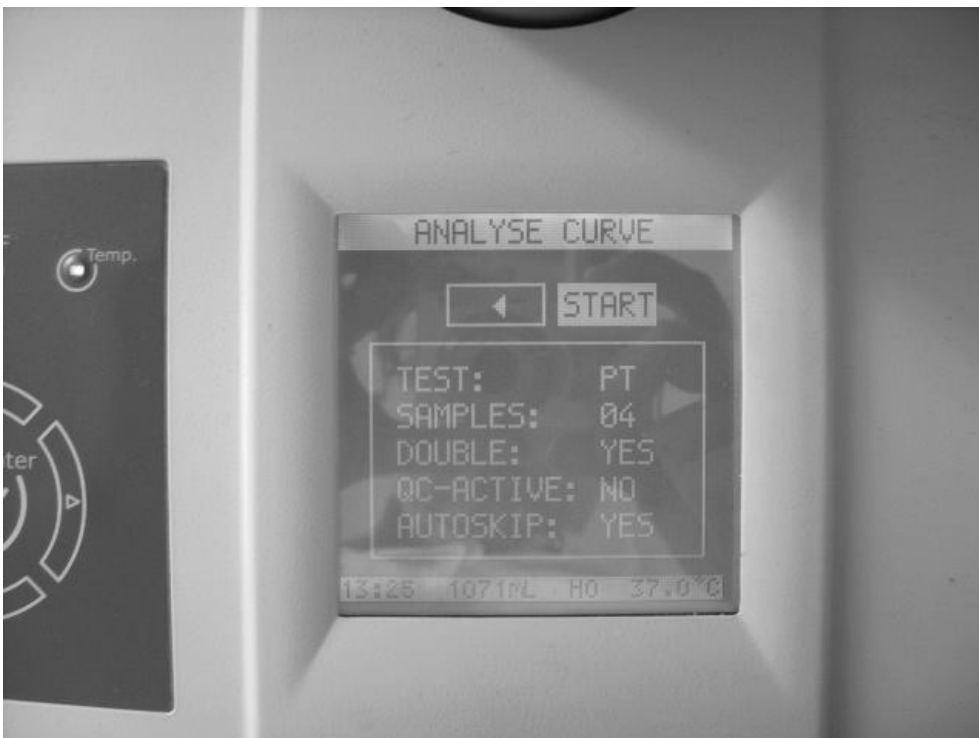
В строке ENTRY – выберите либо «MANUAL»- если Вы хотите ввести старую калибровку. Либо «AUTO»- если Вы хотите запустить автоматическую калибровку и если прибор ранее не калибровался. Выбор осуществляется клавишами влево-вправо , подтверждение клавишей Enter.

6)Появится новое окно



Прибор запрашивает значение калибратора. В данной строке вводится активность протромбина в плазме-калибраторе в процентах и подтверждается нажатием клавиши Enter.

7)Появится новое окно



В данном окне выводится обобщающая информация по параметрам калибровки, перед тем как прибор запустит процесс калибровки.

ВАЖНО: В строке «SAMPLES: 04» -число «04» расшифровывается следующим образом-- поставьте в прибор АС-4 в первый держатель четыре пробирки и в первую залейте 1 мл калибратора.

Если бы было написано «SAMPLES: 06»- то это бы означало , - поставьте 6 пробирок и в первую залейте 1мл калибратора.

После установки пробирок нажмите Enter.

ВАЖНО: При калибровке Вы должны обязательно использовать пробирки того типа , под которые проводилась юстировка иглы (Adjustment XYZ).

8)Появится новое окно



В данном меню обобщается информация о количестве реагентов, номеров позиций для установки этих реагентов на борт, а также количестве кювет, необходимых для проведения калибровки данного теста.

Это окно означает. В позиции 25 должен стоять флакончик с 1300 мкл реагента (цифра приведена с учетом мертвого объема).

В позиции 39 должен стоять флакончик с 2500 мкл реагента .

«Cuvettes 2» - означает, что на всю процедуру уйдет 2 кюветы.

Убедитесь ,что реагенты стоят на своих местах и у Вас достаточно реакционных кювет.

Нажмите Enter.

Начнется сам процесс измерения.

9) Если Вы выполняли калибровку в тесте на протромбин, то после окончания измерения (калибровки) на экране появится новое окно



В строку «NORMAL» вводится значение ПВ нормальной (100 %) плазмы. Оно может быть рассчитано по формуле $PВ100\% = PВк / ПОк$, где ПВк – протромбиновое время плазмы-калибратора в секундах (определяется одновременно с исследуемым образцом или равно времени свертывания неразведенной плазмы-калибратора при предварительном проведении калибровки по Квику), ПОк – протромбиновое отношение плазмы-калибратора (указано в паспорте к плазме). Например, $PВ100\% = 16,6 / 1,02 = 16,27$ (сек).

Вторая строка неактивна. В ней указано расчетное значение ПВ по калибровочному графику соответствующее активности 100% .

В третью строку вводится значение МИЧ используемого тромбoplastина (в диапазоне 1,0-1,2).

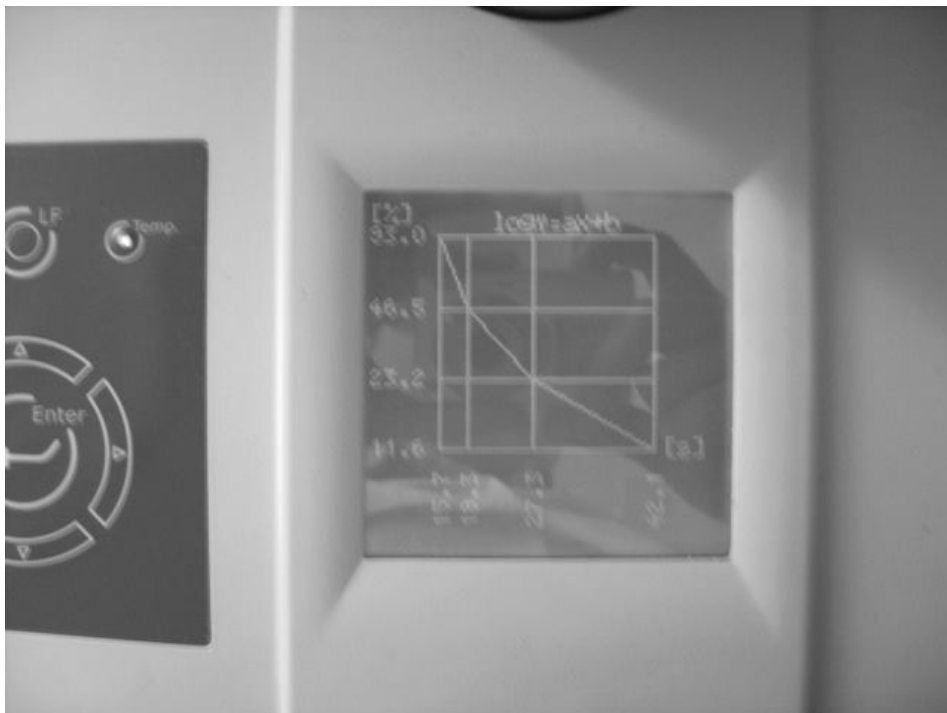
Нажмите Enter.

10) Появится новое окно.



Здесь Вы можете при желании подкорректировать данные. Если Вас все устраивает нажмите Enter.

11) Появится новое окно.



Это окно неактивно. Нажмите Enter.

13) Появится новое окно.



Если Вас устраивает калибровка и Вы хотите ее сохранить, то выберите YES и нажмите Enter.

После проведения процесса калибровки проводится контроль качества на контрольных плазмах, аттестованных в нормальной и патологической областях.

При успешном прохождении контроля качества можно приступать к анализу пациентов используя стандартный протокол работы в программе Tesam.

Пример паспорта на реагент Ренампластин

Ренампластин
Серия № 9812

Годен до: 11.14

№ п/п	Наименование показателя	По ТУ 9398-254-05595541-02	Фактическое значение
1	Внешний вид Ренампластина	Пористая масса серого цвета	Соответствует
2	Растворимость Ренампластина, мин. не более	3	Соответствует
3	Активность Ренампластина в пуле донорской плазмы, сек.	12 – 18	16,0
4	Международный Индекс Чувствительности (МИЧ)	1,0 – 1,2	1,20
5	Допустимое отклонение активности Ренампластина от аттестованного значения, % не более	10	Соответствует
6	Допустимое отклонение МИЧ Ренампластина от аттестованного значения, % не более	10	Соответствует
7	Чувствительность, в % протромбина не более	12,5	Соответствует
8	Линейность в диапазоне концентраций 100-25%, отклонение в % не более	10	Соответствует
9	Коэффициент вариации результатов определения, % не более	10	Соответствует

Пример паспорта

Протромбин-калибратор

Серия 0113

Годен до: 06.14

№ п/п	Исследуемые параметры гемостаза	Значение (M±2σ)
1	ПО, Ренампластин	1,0±0,05
2	ПО, Тромбопластин	1,0±0,05
3	Активность протромбина по Квику, в % (Ренампластин)	100±5
4	Активность протромбина по Квику, в % (Тромбопластин)	100±5

Интерпретация результатов

Нормальная область.

Протромбиновое время – 14-18 секунд.

Процент протромбина по Квику – 70-130%.

Международное Нормализованное Отношение – 0,85-1,15.

Протромбиновый индекс – 90-105%.

Терапевтическая область.

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

Определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ)

Для оценки АЧТВ с помощью коагулометра Helena AC 4 НПО РЕНАМ рекомендует использовать АЧТВ-тест (кат. № ПГ 7/1).

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма Н» (кат. № КМ-1), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-2), аттестованную по 20 параметрам в нормальной области системы гемостаза.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма патологическая» (кат. № КМ-3), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в патологической области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-4), аттестованную по 20-ти параметрам в патологической области системы гемостаза.

Пример инструкции к набору АЧТВ-тест

Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ).

АЧТВ является одним из наиболее распространенных и чувствительных тестов для выявления широкого диапазона коагуляционных нарушений. АЧТВ изменяется в зависимости от различных количеств фибриногена, активности протромбина, факторов V, VIII, IX, X, XI, XII, других факторов контакта, присутствия специфических ингибиторов факторов свертывания VIII и IX. АЧТВ является широко применяемым методом контроля эффективности парентерального введения гепарина.

Принцип метода

К исследуемой плазме добавляют реагент, представляющий собой водный раствор эллаговой кислоты (активатор внутреннего пути свертывания) в комплексе с соевыми фосфолипидами. В процессе измерения АЧТВ регистрируют время от момента добавления ионов кальция до момента образования сгустка.

Состав набора АЧТВ-тест

код ПГ-7/1

1. АЧТВ-реагент (4 мл) – 7 флаконов.
2. Кальция хлорида 0,025 М раствор (10 мл) – 3 флакона.

Состав набора АЧТВ-реагент

код ПГ-7/2

АЧТВ-реагент (4 мл) – 3 флакона.

Приготовление реагентов и стабильность

АЧТВ-реагент. АЧТВ-реагент представляет собой лиофильно высушенный реагент на основе соевых фосфолипидов и активатора – эллаговой кислоты. Внести во флакон с АЧТВ-реагентом 4 мл дистиллированной воды, растворить при покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 30 минут после растворения.

Стабильность АЧТВ-реагента.

Реагент	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C
АЧТВ-реагент	14 дней	1 день	2 мес.

Кальция хлорида 0,025 М раствор. Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при 37°C. Повторное прогревание вскрытого флакона не рекомендуется.

Стабильность.

+2-8°C	+18-25°C	+37°C
До окончания срока хранения в закрытом виде		8 часов

Получение исследуемой плазмы для анализа.

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия, центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 1,0 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при 2-8°C не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

Меры предосторожности.

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать перчатки медицинские диагностические одноразовые, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Контрольная плазма

При комнатной температуре (18-25°C) внести во флакон с лиофильно высушенной плазмой 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор плазмы нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20-30 мин.

Приготовленный раствор плазмы можно хранить во флаконе изготовителя:

- не более 4 часов при температуре 2-8°C;
- не более 2 часов при комнатной температуре (18-25°C).

Приготовленный раствор плазмы можно разлить по аликвотам в пластиковые пробирки, плотно закрыть, заморозить в течение 1 часа при температуре -24°C и хранить при этой температуре не более 2 недель.

Программирование прибора

Определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) производится по стандартному протоколу АРТТ. АЧТВ реагент устанавливается в позицию АРТТ (позиция 31), хлористый кальций в позицию CaCl₂ (позиция 26).

Пример Паспорта

Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ)

АЧТВ-тест

Серия № 9912

Годен до 07.14

№ п/п	Наименование показателя	По ТУ № 9398-017-05595541-2009	Фактическое значение
1	Внешний вид АЧТВ-реагента	Пористая масса серого цвета	Соответствует
2	Внешний вид кальция хлорида 0,025 М раствора	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
3	Растворимость АЧТВ-реагента, минут, не более	1	Соответствует
4	АЧТВ здоровых доноров, сек		24 - 34
5	Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ, % не более	10	Соответствует
6	Допустимое отклонение продолжительности АЧТВ от аттестованного значения, % не более	10	Соответствует

Интерпретация полученных результатов.

АЧТВ-реагент не чувствителен к волчаночному антикоагулянту.

АЧТВ-реагент чувствителен к присутствию гепарина. Возможно использовать в качестве реагента, позволяющего проводить мониторинг гепаринотерапии.

АЧТВ-реагент можно использовать при определении активностей факторов внутреннего пути свертывания.

В норме АЧТВ составляет 24-34 секунды.

Определение уровня фибриногена по Клауссу (FIB)

Для количественной оценки содержания фибриногена по Клауссу с помощью коагулометра Helena AC 4 НПО РЕНАМ рекомендует использовать тест-систему Фибриноген-тест (кат. № ПГ-10/1). Рекомендуется использовать методику определения фибриногена по стандартному протоколу FIB.

В качестве калибратора используется плазма-калибратор, входящая в состав набора Фибриноген-тест. Также возможно использование Плазмы-калибратора (кат. № КМ-16), аттестованной по активности факторов свертывания, в том числе фибриногена.

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма Н» (кат. № КМ-1), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-2), аттестованную по 20 параметрам в нормальной области системы гемостаза.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма патологическая» (кат. № КМ-3), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в патологической области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-4), аттестованную по 20 параметрам в патологической области системы гемостаза.

Пример инструкции к набору Фибриноген-тест

Набор реагентов для определения содержания фибриногена

Определение содержания фибриногена в плазме крови человека является одним из четырех базовых тестов. Измерения содержания фибриногена в плазме проводят при гиперфибриногенемии, которая связана с тяжестью воспалительных, иммунных, деструктивных процессов, а также является одним из факторов повышенного риска развития гипервискозного синдрома, артериальных тромбозов и инфарктов органов. Снижение концентрации фибриногена наблюдается при остром ДВС-синдроме, при лечении фибринолитиками, при врожденных гипо- и дисфибриногенемиях.

Принцип метода

Определение содержания фибриногена основано на измерении времени свертывания разведенной плазмы избытком тромбина. В этом случае время свертывания зависит только от концентрации фибриногена в плазме. Концентрацию фибриногена определяют по калибровочной прямой, используя плазму с известным содержанием фибриногена.

Состав набора

1. Тромбин для определения фибриногена (2 мл) – 8 флаконов.
2. Плазма-калибратор (1 мл) – 1 флакон.
3. Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) – 1 флакон.

Приготовление реагентов

1. Рабочий буферный раствор. Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) перенести количественно в мерную колбу вместимостью 100 мл и долить до метки дистиллированной водой (разведение в 20 раз), тщательно перемешать. Рабочий буферный раствор хранить при температуре +2-8°C не более 1 месяца.

2. Тромбин для определения фибриногена. Тромбин человека, лиофильно высушенный с активностью около 50 МЕ/мл. Внести во флакон с лиофильно высушенным тромбином 2 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

3. Раствор плазмы-калибратора. Во флакон с плазмой-калибратором внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

Стабильность реагентов.

Реагенты	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C
Тромбин для определения фибриногена	5 дней	2 дня	2 месяца
Раствор плазмы – калибратора	8 часов	4 часа	2 месяца

Чувствительность тромбина к гепарину.

В состав тромбина входит инактиватор гепарина, что позволяет использовать данный реагент для измерения содержания фибриногена в гепаринизированных образцах плазмы больных.

Получение исследуемой плазмы для анализа.

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия. Центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 1,0 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при +2-8°C не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

Меры предосторожности.

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать перчатки медицинские диагностические одноразовые, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В и С или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

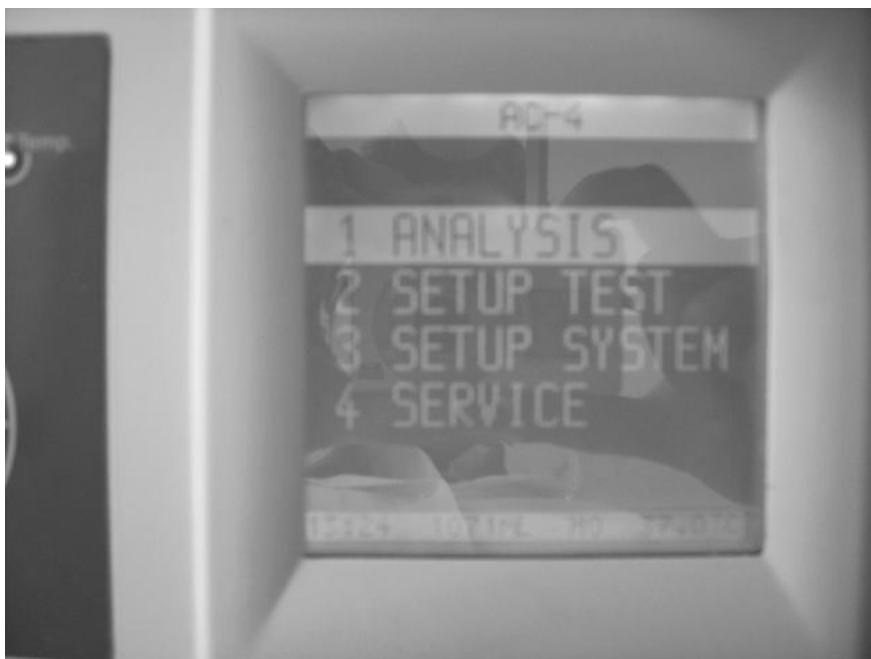
Программирование прибора

Измерение уровня фибриногена осуществляется с помощью стандартного теста FIB.

Тромбин устанавливается в позицию 29. Имидазоловый буфер устанавливается в позицию 39.

Построение калибровочной кривой

1) Выйдите в главное меню.



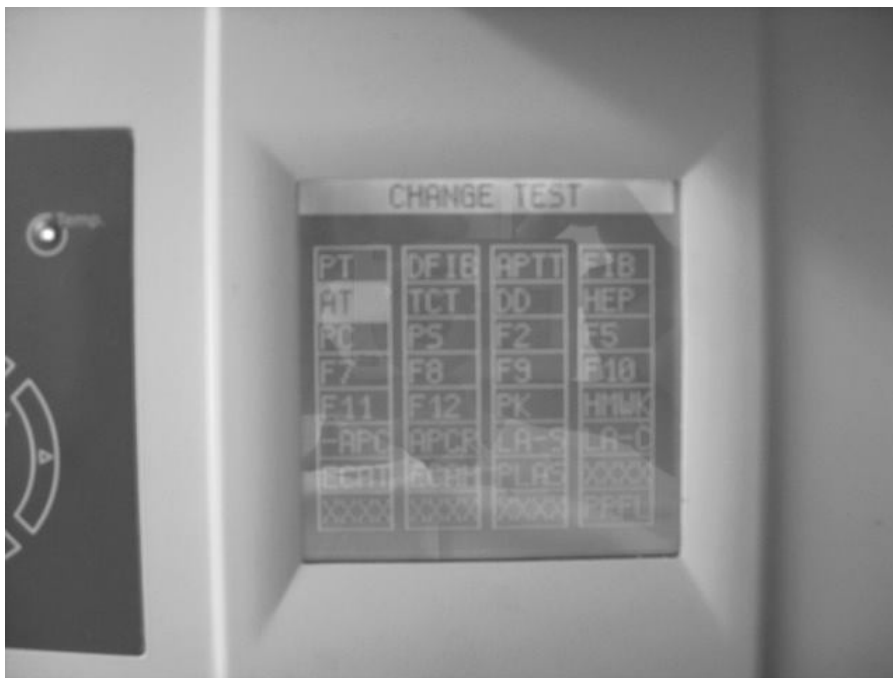
Нажмите цифру 2

2) Появится новое меню



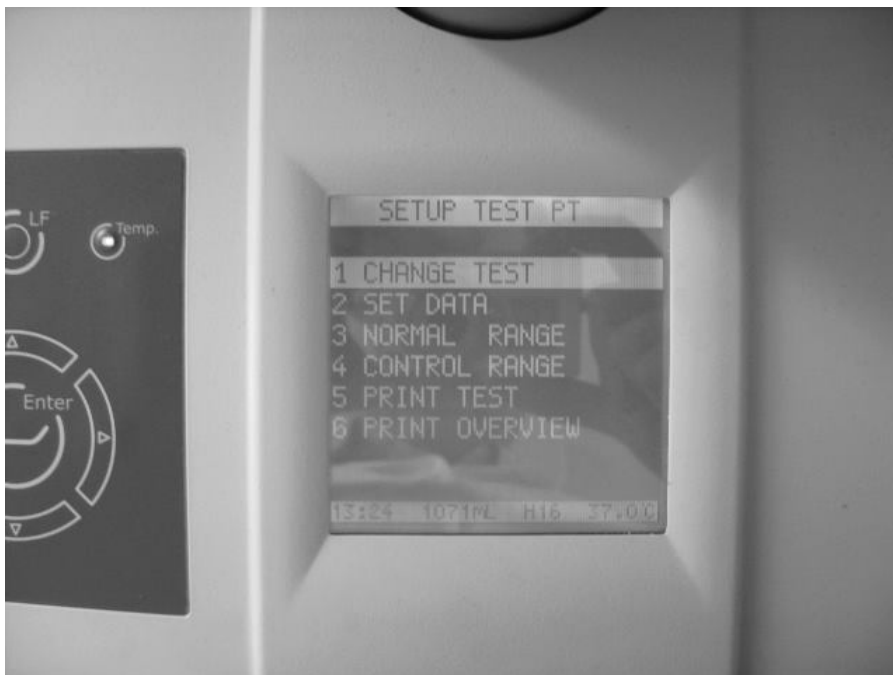
Нажмите цифру «1».

3) Появится новое меню



Используя клавиши вверх, вниз, влево и вправо наведите курсор на тест F18 и нажмите Enter.

4) Появится новое меню



Нажмите цифру 2.

5) Появится новое меню



Строка «TEST»-недоступна.

В строку «LOT»-введите серию (лот) реактива.

В строку «EXP»-введите срок годности реактива

В строке «UNIT»- выберите единицы измерения для калибруемого теста. (Пример: для фибриногена выберите g/l)

В строке «INCUB» - 120 сек.

В строке «RUNTIME»- 120 сек.

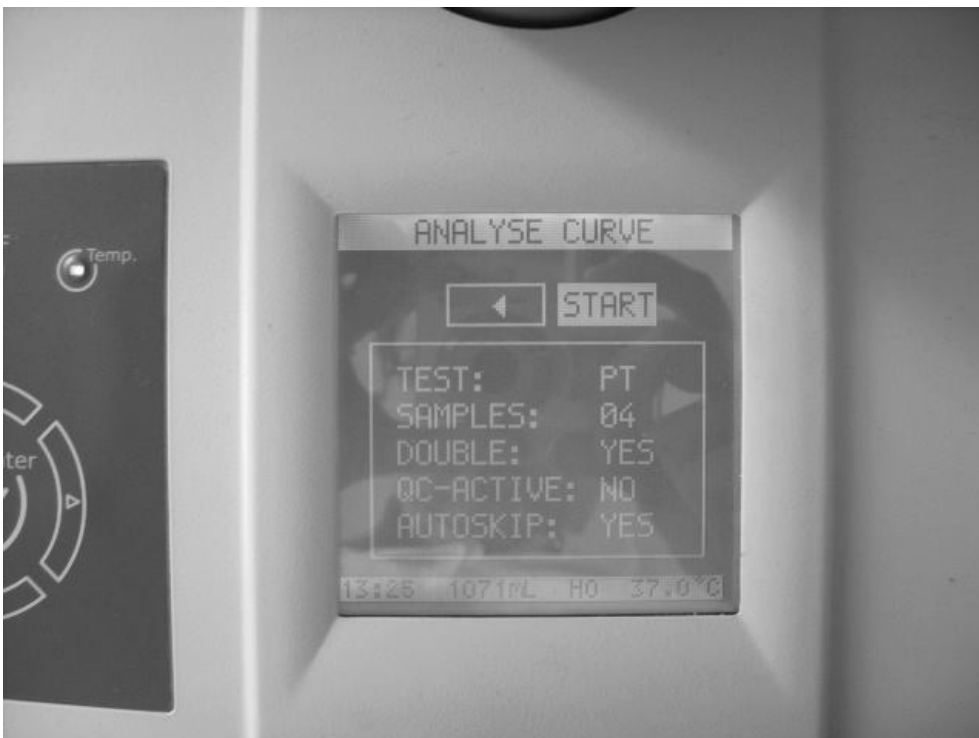
В строке ENTRY – выберите либо «MANUAL»- если Вы хотите ввести старую калибровку. Либо «AUTO»- если Вы хотите запустить автоматическую калибровку и если прибор ранее не калибровался. Выбор осуществляется клавишами влево-вправо , подтверждение клавишей Enter.

6)Появится новое окно



Прибор запрашивает значение калибратора. В данной строке вводится содержание фибриногена в плазме-калибраторе в г/л и подтверждается нажатием клавиши Enter.

7)Появится новое окно



В данном окне выводится обобщающая информация по параметрам калибровки, перед тем как прибор запустит процесс калибровки.

ВАЖНО: В строке «SAMPLES: 04» -число «04» расшифровывается следующим образом-- поставьте в прибор АС-4 в первый держатель четыре пробирки и в первую залейте 1 мл калибратора.

Если бы было написано «SAMPLES: 06»- то это бы означало ,- поставьте 6 пробирок и в первую залейте 1мл калибратора.

После установки пробирок нажмите Enter.

ВАЖНО: При калибровке Вы должны обязательно использовать пробирки того типа , под которые проводилась юстировка иглы (Adjustment XYZ).

8)Появится новое окно



В данном меню обобщается информация о количестве реагентов, номеров позиций для установки этих реагентов на борт, а также количестве кювет, необходимых для проведения калибровки данного теста.

Это окно означает. В позиции 25 должен стоять флакончик с 1300 мкл реагента (цифра приведена с учетом мертвого объема).

В позиции 39 должен стоять флакончик с 2500 мкл реагента .

«Cuvettes 2» - означает, что на всю процедуру уйдет 2 кюветы.

Убедитесь ,что реагенты стоят на своих местах и у Вас достаточно реакционных кювет.

Нажмите Enter.

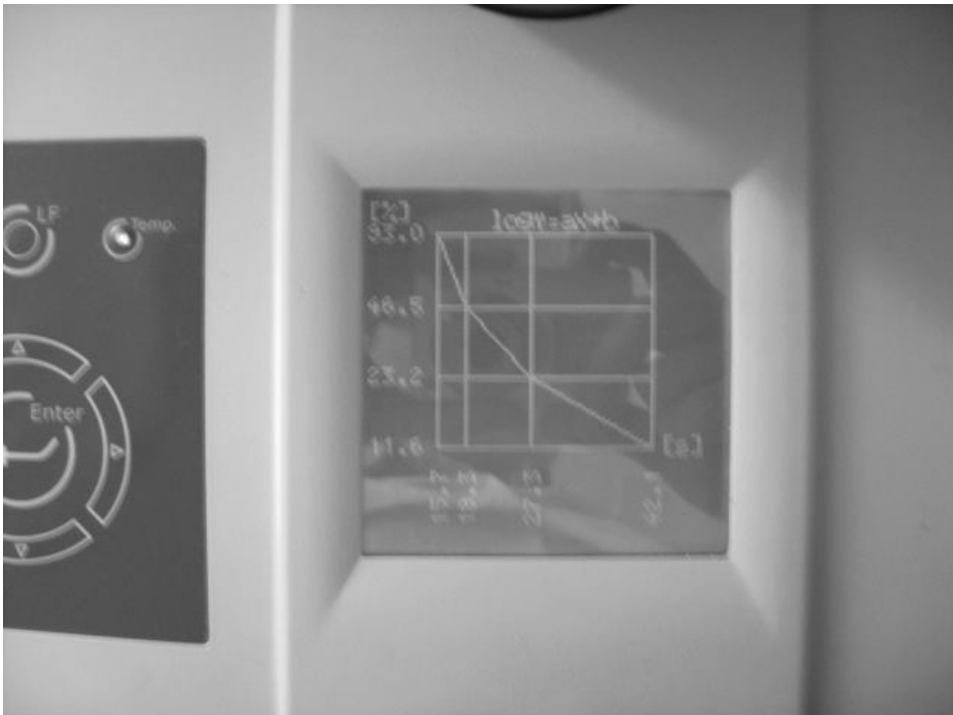
Начнется сам процесс измерения.

9)Появится новое окно.



Здесь будет отображена информация о полученных значениях в процессе калибровки, а также будет возможность, при желании ,подкорректировать данные. Если Вас все устраивает нажмите Enter.

11)Появится новое окно.



Это окно неактивно. Нажмите Enter.

13)Появится новое окно.



Если Вас устраивает калибровка и Вы хотите ее сохранить, то выберите YES и нажмите Enter. После проведения процесса калибровки проводится контроль качества на контрольных плазмах, аттестованных в нормальной и патологической областях. При успешном прохождении контроля качества можно приступать к анализу пациентов используя стандартный протокол работы в программе Tescam.

Пример паспорта к набору Фибриноген-тест

Набор реагентов для определения содержания фибриногена

Фибриноген-тест
Серия № 5312

Годен до:12.14

№ п/п	Наименование показателя	По ТУ № 9398-264-05595541-02	Фактическое значение
1	Внешний вид тромбина	Пористая масса белого цвета	Соответствует
2	Внешний вид буфера имидазолового концентрированного с.5212	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
3	Внешний вид плазмы-калибратора	Пористая масса желтого цвета	Соответствует
4	Растворимость тромбина и плазмы-калибратора, мин. не более	3	Соответствует
5	Содержание фибриногена в плазме-калибраторе, г/л Плазма-калибратор сер. 18 12	1,8 – 3,5	2,45
6	Допустимое отклонение содержания фибриногена в плазме-калибраторе от аттестованного значения, % не более	5	Соответствует
7	Чувствительность, г/л не более	0,7	Соответствует
8	Линейность в диапазоне концентраций 0.8-5.0 г/л отклонение в % не более	5	Соответствует
9	Коэффициент вариации результатов определения, % не более	5	Соответствует

Интерпретация результатов.

В норме содержание фибриногена составляет 1,8 – 4 г/л.

Определение тромбинового времени (ТСТ)

Для оценки ТВ с помощью коагулометра Helena AC 4 НПО РЕНАМ рекомендует использовать Тромбин-реагент (кат. № ПГ-9А).

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма Н» (кат. № КМ-1), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной области, либо Плазму (кат. № КМ-2), аттестованную по 20 параметрам в нормальной области системы гемостаза.

В качестве контроля в патологической области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма патологическая» (кат. № КМ-3), аттестованную по шести основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в патологической области, либо Плазму контрольную (кат. № КМ-4), аттестованную по 20 параметрам в патологической области системы гемостаза.

Пример инструкции к набору Тромбин-реагент

Набор реагентов для определения тромбинового времени.

Тест тромбиновое время характеризует конечный этап свертывания, т.е. скорость превращения фибриногена в фибрин. Тест тромбиновое время (ТВ) используют для определения функциональной активности фибриногена и ингибиторов тромбина в плазме, таких как:

- продукты деградации фибрина/фибриногена;
- гепарин и гепариноиды;
- при проведении фибринолитической терапии.

Аномальное тромбиновое время встречается в случаях гипофибриногенемии, афибриногенемии, или дисфибриногенемии.

Принцип метода

Основан на определении времени образования фибринового сгустка при добавлении к плазме раствора тромбина необходимой активности.

Набор

Тромбин-реагент

код ПГ-9А

Состав набора.

1. Тромбин-реагент – 9 флаконов,
2. Растворитель для тромбин-реагента, концентрат (6 мл) – 1 флакон.

Приготовление реагентов

1. Растворитель для тромбин-реагента. Концентрат растворителя для тромбина, 6 мл перенести в мерный цилиндр, довести дистиллированной водой до объема 60 мл и тщательно перемешать. Хранить при температуре +2-8°C не более 1 месяца.

2. Тромбин-реагент и его стабильность.

В зависимости от необходимой активности тромбина внести во флакон с лиофильно высушенным тромбин-реагентом следующее количество растворителя (см. таблицу).

Активность МЕ/мл	Объем растворителя, который необходимо внести во флакон, мл	Стабильность		
		2-8°C	+18-25°C	-18-22°C*
9	2	3 дня	1 день	1 месяц
6	3	3 дня	1 день	1 месяц
3	6	3 дня	1 день	1 месяц

*не рекомендуется повторное замораживание реагента.

Тромбин-реагент готов к проведению анализа через 15 минут после добавления растворителя.

Получение исследуемой плазмы для анализа.

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку на 3,8% (0,11 моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0,11 моль/л) цитрате натрия. Центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 1,0 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при 2-8°C не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре -20°C.

Стандартизация Тромбин-реагента.

Каждая серия Тромбин-реагента для определения тромбинового времени аттестована по активности в МЕ/мл против вторичного Международного стандарта по процедуре, утвержденной Европейской Фармакопеей.

Пределы времени свертывания в контрольной плазме с активностью тромбина 3, 6 и 9 МЕ/мл указаны в паспорте на набор.

Чувствительность Тромбин-реагента к гепарину.

Рабочие растворы тромбина с активностью 3, 6 и 9 МЕ/мл чувствительны к присутствию гепарина в исследуемой плазме, что позволяет проводить с помощью данного реагента мониторинг за введением гепарина.

Меры предосторожности.

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора следует рассматривать как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать перчатки медицинские диагностические одноразовые, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В и С или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Контрольная плазма.

При комнатной температуре (18-25°C) внести во флакон с лиофильно высушенной плазмой 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор плазмы нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20-30 мин.

Приготовленный раствор плазмы можно хранить во флаконе изготовителя:

- не более 4 часов при температуре 2-8°C;
- не более 2 часов при комнатной температуре (18-25°C).

Приготовленный раствор плазмы можно разлить по аликвотам в пластиковые пробирки, плотно закрыть, заморозить в течение 1 часа при температуре -24°C и хранить при этой температуре не более 2 недель.

Программирование прибора

Тромбиновое время определяется по стандартному протоколу ТСТ.

В качестве реагента Thrombin выступает рабочий стабилизированный раствор тромбин-реагента.

На борту используется позиция 27.

Интерпретация результатов.

Нормальная область для теста Тромбиновое время:

9 МЕ/мл	7 – 9 секунд
6 МЕ/мл	10 – 13 секунд
3 МЕ/мл	14 – 20 секунд