

# Работа на автоматических коагулометрах с использованием реагентов отечественного производства



## Автоматические коагулометры Sysmex серия CS-2000



Методическое руководство

Авторы: Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Кишинец Р.С., Хурдин В.В., Меркулов Н.С.

Работа на автоматических коагулометрах Sysmex, серии CS-2000, 2100i с использованием реагентов торговой марки «Ренам»

## Методическое руководство

В настоящее время нередки случаи ложных результатов клинических лабораторных исследований, что в большинстве случаев обусловлено ошибками на преаналитическом этапе. Однако, достаточно часто, наблюдаются ошибки и на аналитическом этапе исследования системы гемостаза. Большинство ошибок на этом этапе позволяет избежать применение автоматических коагулометров. Известно, что производители коагулометров, рекомендуют применение реагентов определенного производителя. Но зачастую возникают ситуации, при которых лаборатория остается без вышеуказанных реактивов (недостаточность финансирования лаборатории, задержка в поставках рекомендуемых реактивов). Все это приводит к поиску альтернативных источников реагентов с целью бесперебойной работы лаборатории без потери качества коагулологических исследований.

Данное методическое руководство предназначено для сотрудников клинико-диагностических лабораторий, занимающихся диагностикой системы гемостаза. В руководстве детально описаны принципы адаптации реагентов торговой марки «РЕНАМ» к приборам серии CS-2100i.

**Для удобства работы на автоматических коагулометрах разработана специальная линейка реагентов, включающая в себя штрихкодирование флаконов и аттестацию контрольных материалов к конкретной модели коагулометра.**

**Просьба при заказе уточнять целевое назначение закупаемых реагентов и марку автоматического коагулометра!**

# Оглавление

Определение протромбинового времени (РТ) .....	4
Определение активированного частичного тромбопластинового времени (АРТТ)...	13
Определение уровня фибриногена по Клауссу (Fbg) .....	20
Определение тромбинового времени (ТТ) .....	26

## **Определение протромбинового времени (РТ)**

Серия приборов CS-2100i является открытой системой для постановки на них реагентов, отличающихся от рекомендованных производителем приборов. Для оценки протромбина по Квику и МНО с помощью вышеуказанного коагулометра НПО РЕНАМ рекомендует использовать Ренампластин (кат. № ПГ-5/1).

В качестве калибровочной плазмы рекомендуется использовать плазму-калибратор «Протромбин-калибратор» (кат. № КМ-18).

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 и патологической областях.



## ИНСТРУКЦИЯ

по применению Тромбопластина (из головного мозга кролика) для определения протромбинового времени (Ренампластин)

### НАЗНАЧЕНИЕ

Ренампластин - тромбопластин-кальциевый реагент, водорастворимый, полученный из мозга кроликов с добавлением оптимального количества ионов кальция.

Ренампластин предназначен для определения протромбинового времени (ПВ) в плазме венозной крови и расчета протромбинового отношения (ПО), протромбинового индекса (ПИ) и Международного Нормализованного Отношения (МНО), а также для определения Протромбина по Квику в % от нормы.

Определение протромбинового времени - это высокочувствительный 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 предназначен для работы на всех типах полуавтоматических и автоматических коагулометров и ручным методом.

### ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

#### Состав:

Ренампластин (8 мл) 10 флаконов код ПГ-5/1  
3 флакона код ПГ-5/2

#### Число анализируемых проб биологического материала

Один набор код ПГ-5/1 предназначен для проведения 800 анализов при расходе 100 мкл Ренампластина на один анализ или 400 анализов при расходе 200 мкл Ренампластина на один анализ.

Один набор код ПГ-5/2 предназначен для проведения 240 анализов при расходе 100 мкл Ренампластина на один анализ или 120 анализов при расходе 200 мкл Ренампластина на один анализ.

**Принцип метода.** При добавлении к цитратной плазме избытка тканевого тромбопластина и ионов кальция время образования студка фибрина зависит только от активности факторов внешнего и общего пути коагуляции: I, II, V, VII, X.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения протромбинового времени: билирубин в концентрации до 0,3 г/л, свободный гемоглобин - до 5 г/л, триглицериды - до 6 г/л и нефракционированный гепарин - до 0,6 МЕ/мл. При превышении указанных концентраций возможно получение ложно завышенных результатов определения протромбинового времени. Присутствие волчаночного антикоагулянта и низкий (менее 1 г/л) уровень фибриногена в исследуемой плазме также может приводить к получению ложно завышенных результатов.

Удлинение протромбинового времени может быть связано с:

- дефицитом факторов внешнего пути свертывания (II, V, VII, X);
- дефицитом витамина К;
- приемом антикоагулянтов непрямого действия (например, варфарин, синкумар и др.);
- ДВС-синдромом (фаза гипокоагуляции);
- афибриногенемией, гипофибриногенемией, дисфибриногенемией;
- заболеванием печени;
- антикоагулянтами прямого действия (гепарин);
- злокачественными опухолями.

Укорочение протромбинового времени свидетельствует об:

- активации внешнего пути свертывания и гиперкоагуляции;
- повышении активности факторов внешнего пути свертывания;
- ДВС-синдромом;
- активацией системы фибринолиза.

#### Чувствительность

В зависимости от чувствительности коагулометра Ренампластин позволяет определить протромбин по Квику до 10%.

### Воспроизводимость

Допустимое отклонение Международного Индекса Чувствительности (МИЧ) Ренампластина от аттестованного значения - не более 5%. Коэффициент вариации и межфлаконная вариация результатов определения протромбинового времени - не более 5%.

### Линейность

Линейность определения протромбина по Квику от 12,5 до 100%

### Стандартизация Ренампластин

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.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов предназначен для диагностики in vitro. Класс опасности 2а.

При работе с набором реагентов следует соблюдать правила, описанные в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Инструкция утверждена Минздравом СССР в 1991 г.). При работе с исследуемыми образцами крови пациентов следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, т.к. образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

### ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Коагулометр любого типа с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- термобаня на 37°C и секундомер (для ручного определения);
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М);
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- Протромбин-калибратор (плазма с аттестованным значением протромбина по Квику и МНО);
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% раствор натрия хлорида);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

#### Вид анализируемого биологического материала

Набор Ренампластин предназначен для определения протромбинового времени в плазме человеческой крови.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

#### Процедура получения биологического материала

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% (0,109 моль/л) цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре (18-25°C) в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Плазму крови непосредственно после получения или анализируют сразу, или помещают во флаконы с плотно закрывающимися крышками, замораживают и хранят при температуре не выше -20°C. При таких условиях образцы пригодны для анализа в течение 2-х месяцев.

### Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 8 ч при комнатной температуре. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18-20°C и хранение при этой температуре не более 2 мес.

### Ограничения по использованию биологического материала

При работе с кровью общим правилом является немедленное отделение плазмы от форменных элементов, так как некоторые вещества могут поглощаться и инактивироваться эритроцитами и лейкоцитами.

Повторное замораживание образцов исследуемой плазмы не допускается, т.к. при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная деградация белковых веществ.

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Внести во флакон с лиофильно высушенным Ренампластином 8 мл дистиллированной воды и растворить при покачивании. Перед проведением анализа реагент необходимо прогреть при 37°C в течение 30 мин.

### ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на коагулометре программу для определения протромбинового времени.
- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки коагулометра.
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу измерения.
- Считать результаты.

#### Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре и ручным методом на термобане

##### Построение калибровочного графика

Приготовить ряд разведений Протромбин-калибратора физиологическим раствором по следующей схеме.

Протромбин по Квику в Протромбин-калибраторе в %	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 % от нормы) в Протромбин-калибраторе.

#### Проведение анализа

Внести в кювету анализатора или в пробирку на термобане:	Объем, мл
Протромбин-калибратор (плазма контрольная или исследуемая плазма)	50
Инкубировать при 37°C точно 1 или 2 минуты.	
Ренампластин	100

### РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить ПВ в исследуемой плазме от момента добавления Ренампластина до момента образования фибринового сгустка.

### УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты протромбинового теста могут быть выражены как:

- МНО (Международное Нормализованное Отношение);
- Протромбин по Квику в % от нормы;
- Протромбиновое отношение;
- Протромбиновый индекс, %.

В норме эти показатели составляют:

Протромбиновое время, сек	14–18
МНО	0,85–1,15
Протромбин по Квику в % от нормы.	70–130
ПИ, %	90–105

#### Протромбиновое отношение (ПО) вычислить по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ_{П}}{ПВ_{100\%}}$$

где:  $ПВ_{100\%}$  – среднее нормальное протромбиновое время, сек;

$ПВ_{П}$  – ПВ исследуемой плазмы пациента, сек.

Так как

$$ПО_{ПК} = \frac{ПВ_{ПК}}{ПВ_{100\%}} \quad \text{то} \quad ПО = \frac{ПВ_{П}}{ПВ_{ПК}} \times ПО_{ПК}$$

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

$ПО_{ПК}$  – протромбиновое отношение Протромбин-калибратора (указано в паспорте на Протромбин-калибратор).

#### Международное Нормализованное Отношение (МНО) вычислить по формуле:

$$МНО = \left( \frac{ПВ_{П}}{ПВ_{100\%}} \right)^{МИЧ} \quad \text{или} \quad МНО = \left( \frac{ПВ_{П}}{ПВ_{ПК}} \times ПО_{ПК} \right)^{МИЧ}$$

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

Таблица пересчета ПО в МНО приведена в прилагаемом паспорте на данную серию Ренампластина.

#### Протромбиновый индекс (ПИ) вычислить по формуле:

$$ПИ = \frac{ПВ_{ПК}}{ПВ_{П}} \times ПИ_{ПК}$$

где:  $ПИ_{ПК}$  – протромбиновый индекс Протромбин-калибратора (указан в паспорте на Протромбин-калибратор).

#### Протромбин по Квику в % от нормы определить с помощью калибровочного графика

Протромбин по Квику в % от нормы в плазме пациента определить по калибровочному графику, построенному с использованием разных разведений Протромбин-калибратора.

Для каждого разведения Протромбин-калибратора определить протромбиновое время (ПВ) в секундах и нанести полученные значения на координатную сетку (скачать с сайта [www.renam.ru](http://www.renam.ru)). Построить калибровочный график зависимости ПВ (сек) от Протромбина по Квику (%). Затем определить ПВ в исследуемых образцах и по графику рассчитать протромбин по Квику. Образцы с высоким уровнем Протромбина по Квику могут выйти за пределы линейности, что приводит к искажению результатов. Поэтому точные значения активности Протромбина по Квику для таких образцов могут быть получены при разведении исследуемой плазмы физиологическим раствором в 2 раза. При этом результат, полученный по калибровочному графику, умножить на 2.

Для удобства работы на график нанесена также вторая ось (Y) с величинами, обратными значению протромбина (1/протромбин в %) и таблица пересчета обратных величин.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения протромбина по Квику и МНО следует контролировать с помощью Плазмы контрольной (пул здоровых доноров) Плазма Н, код КМ-1.

### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 24 месяца. Набор стабилен в течение всего срока годности реагента при условии хранения в укуренном виде при температуре 2-8°C. Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укуренном состоянии.

#### Стабильность Ренампластина

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

Транспортирование наборов должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание наборов допускается.

### МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СанПин 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с Ренампластином 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» МБОУ «Общество больных гемофилией» по адресу:

125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, корп. 2.

тел/факс (499) 707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: [info@renam.ru](mailto:info@renam.ru)

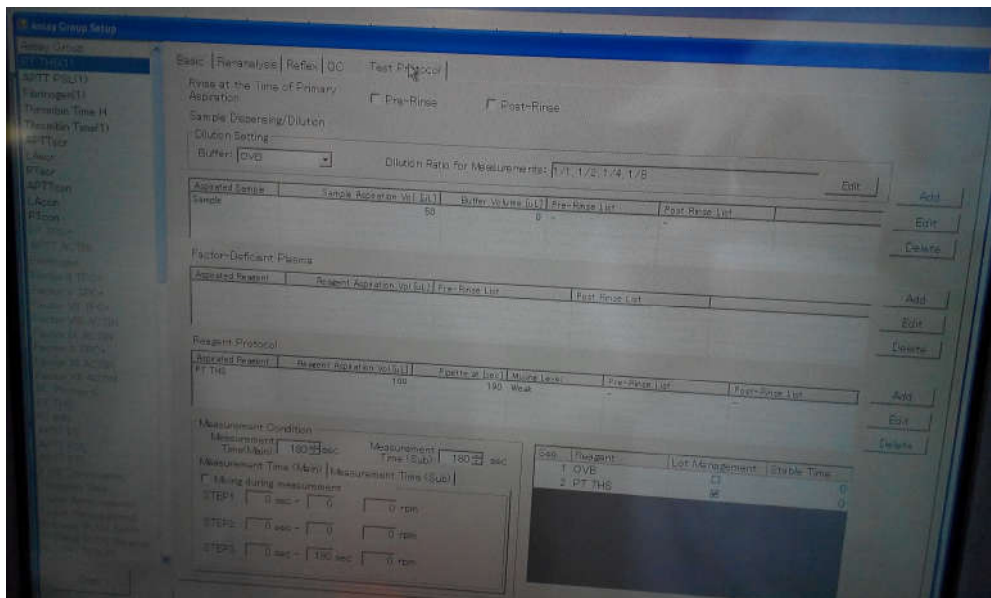
## Программирование прибора

Подготовка и проведение теста реагентами Ренам не отличается от стандартных методик, проводимых на реагентах, рекомендуемых к использованию.

Для диагностики протромбинового времени рекомендуется использовать реагент Ренампластин (кат № ПГ-5/1) на стандартном протоколе **PT TNS**.

С целью **сохранения возможности одновременной работы** на различных реагентах рекомендуется в меню **Assay Group** скопировать стандартный тест PT TNS путём нажатия кнопки **Copy** под окошком со списком тестов.

Пример данного протокола приведён ниже:



Для удобства работы флаконы с реагентами снабжены штрихкодами.



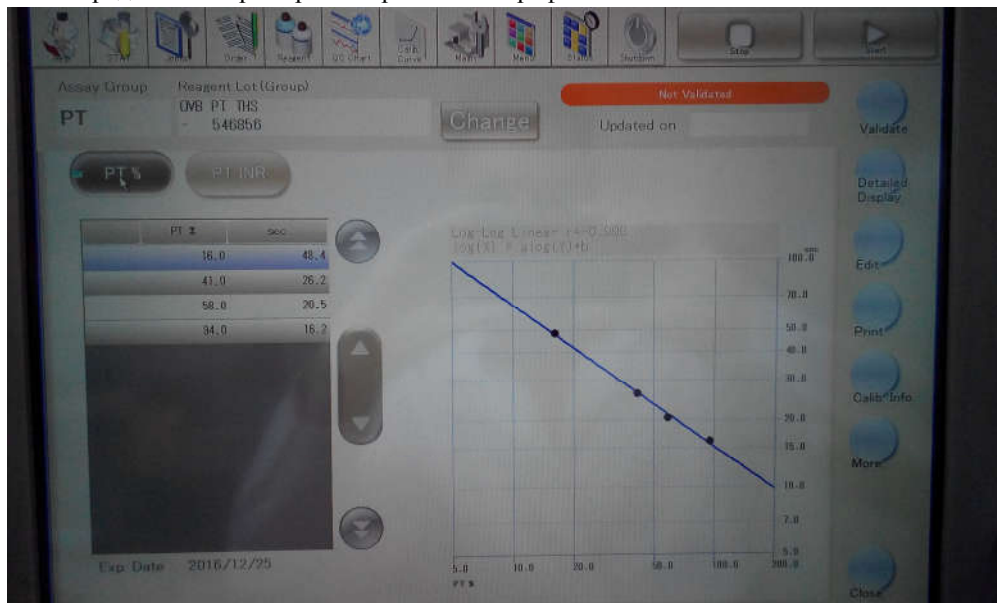
При отсутствии данных реагентов или лотов реагентов в памяти прибора необходимо однократный ввод данной информации, через меню **Reagent Master** и **Lot Master**.



## Построение калибровочной кривой

Построение калибровочной кривой выполняется в соответствии с инструкцией по работе на данном автоматическом коагулометре.

Ниже представлен пример калибровочного графика:

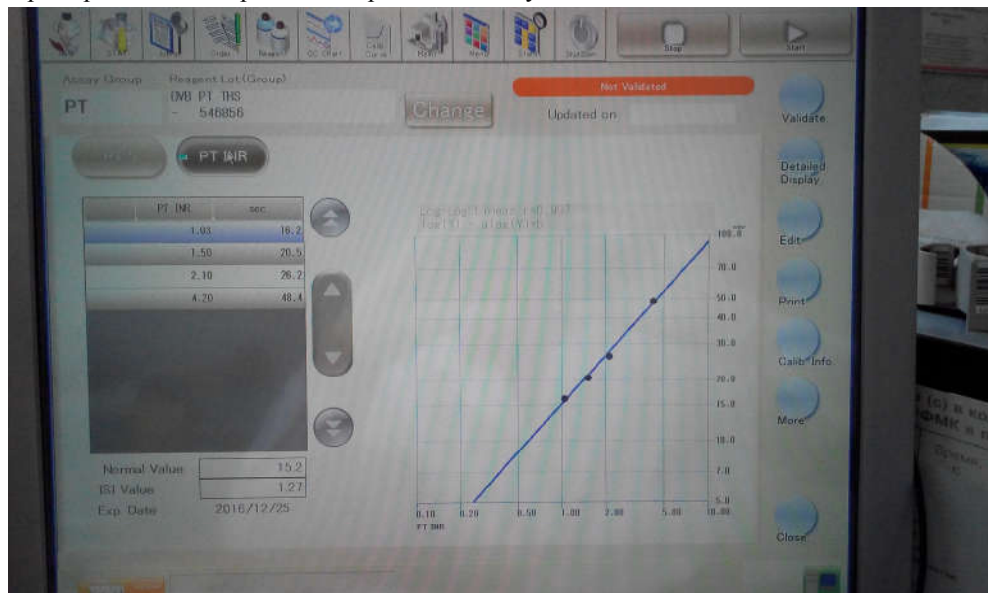


После проведения калибровки необходимо подтвердить калибровочный график нажатием на кнопку Validate.

Для расчета **МНО** необходимо построить калибровочную кривую с помощью набора реагентов Протромбин-калибратор (для построения калибровки по МНО). Данный набор состоит из 4-х плазм, аттестованных по различным уровням активности протромбина по Квику и МНО.

**Просьба при заказе уточнять целевое назначение закупаемых реагентов!**

Пример такой калибровочной кривой можно увидеть ниже:



Значение МИЧ реагента (ISI) устанавливается в окне ISI Value. Значение среднего нормального протромбинового времени ( $ПВ_{100\%}$ ) устанавливается в графе Normal Value. Значение  $ПВ_{100\%}$  рассчитывается следующим образом:

$$ПВ_{100\%} = \frac{ПВ_K}{ПО_K},$$

где  $ПВ_K$  – протромбиновое время в плазме-калибраторе (без разведения);  
 $ПО_K$  – протромбиновое отношение плазмы-калибратора (указано в паспорте на плазму-калибратор).

**Анализ пациентов** производится в соответствии со стандартными рекомендациями и требованиями инструкции по эксплуатации, прилагаемой к данному коагулометру.

## Пример Паспорта

Ренампластин

Серия № 5815

Годен до: 11.17

№ п/п	Наименование показателя	По ТУ 9398-254-05595541-2010	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	<b>13,5</b>
4	Международный Индекс Чувствительности (МИЧ)	1,0 – 1,2	<b>1,18</b>
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 ( $M \pm 2\sigma$ )
1	ПО, Ренампластин	1,0 $\pm$ 0,05
3	Активность протромбина по Квику, в % (Ренампластин)	<b>100<math>\pm</math>5</b>

## Интерпретация результатов

### Нормальная область.

Протромбиновое время – 14-18 секунд.

Активность протромбина по Квику в процентах от нормы – 70-130%.

Международное Нормализованное Отношение – 0,85-1,26.

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 (АРТТ)**

Для оценки АЧТВ с помощью коагулометра Sysmex CS-2100i 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 6 основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ II) в нормальной и патологической областях.



## ИНСТРУКЦИЯ

### по применению Набора реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ-тест)

#### НАЗНАЧЕНИЕ

Активированное частичное тромбопластиновое время (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. При этом время свертывания увеличивается пропорционально уровню гепарина. У пациентов, принимающих пероральные антикоагулянты, снижаются уровни циркуляции факторов II, VII, IX и X, поэтому АЧТВ может увеличиваться. В присутствии неспецифических ингибиторов, например волчаночного антикоагулянта, АЧТВ может удлиниться.

Набор реагентов предназначен для работы на всех типах полуавтоматических и автоматических коагулометров.

#### ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

##### Состав набора

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

##### Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 560 анализов плазмы крови при расходе по 50 мкл реагентов на один анализ или 280 анализов плазмы крови при расходе по 100 мкл реагентов на один анализ.

##### Принцип метода

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

#### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения АЧТВ: билирубин в концентрации до 0,2 г/л; гемоглобин (свободный) – до 1 г/л; триглицериды – до 1,2 г/л. Уменьшение активности факторов внутреннего пути свертывания ниже 50% приводит к увеличению АЧТВ до патологических значений.

Результаты определения АЧТВ могут зависеть от назначаемых препаратов. Эстрогены у мужчин и оральные контрацептивы у женщин снижают значения АЧТВ. Препараты дифенина, гепарина, варфарина, гирудина и других прямых ингибиторов тромбина могут повышать АЧТВ.

На результаты определения АЧТВ влияет выбор антикоагулянта и соблюдение точного соотношения антикоагулянт:кровь.

##### Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ в одной пробе плазмы одним набором не превышает 5%. Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 5%.

Нормальный диапазон значений АЧТВ, полученный при определении АЧТВ у не менее 100 здоровых доноров, составляет в среднем 25-35 сек и указан в паспорте для каждой серии набора.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro*. Класс опасности 2а.

При работе с набором реагентов следует соблюдать правила, описанные в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Инструкция утверждена Минздравом СССР в 1991 г.).

При работе с исследуемыми образцами крови пациентов следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, т.к. образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

#### ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Коагулометр любого типа с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная;
- pipетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, вместимостью 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- термобаня на 37°C и секундомер (для ручного определения);
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М);
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

#### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

##### Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов АЧТВ-тест предназначен для определения АЧТВ в плазме человеческой крови.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

##### Процедура получения биологического материала

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% (0,109 моль/л) цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре (18-25°C) в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g).

Плазму крови непосредственно после получения или анализируют сразу, или помещают во флаконы с плотно закрывающимися крышками, замораживают и хранят при температуре не выше -20°C. При таких условиях образцы пригодны для анализа в течение 2-х месяцев.

##### Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 ч при комнатной температуре и не более 8 ч при температуре 2-8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18-20°C и хранение при этой температуре не более 2 мес.

#### Ограничения по использованию биологического материала

При скрининге пациентов на присутствие неспецифических ингибиторов свертывания (волчаночный антикоагулянт) тромбоциты или тромбоцитарные фрагменты в исследуемой плазме влияют на результаты анализа, маскируя нарушения коагуляционных тестов, вызванные присутствием волчаночного антикоагулянта. Для исследований необходимо использовать плазму крови, лишенную тромбоцитов, полученную двойным центрифугированием.

После первого центрифугирования плазму перенести в другую пробирку и повторно центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин. Немедленно после центрифугирования перенести верхний слой плазмы (не более половины объема) в пластиковую пробирку. Остаточное содержание тромбоцитов в плазме не должно превышать 1000/мл плазмы.

Плазму, содержащую нефракционированный гепарин, следует центрифугировать не позднее чем через один час после получения крови, хранить при комнатной температуре и проанализировать не позднее, чем через 4 часа.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

**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.

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

### ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на коагулометре программу для определения АЧТВ.
- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки коагулометра.
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу измерения.
- Считать результаты.

#### Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре и ручным методом на термобане

Внести в кювету анализатора:	Объем
Плазма контрольная (исследуемая), мкл	50
АЧТВ-реагент, мкл	50
Инкубировать при 37°C точно 3 мин.	
Кальция хлорида 0,025 М раствор, мкл	50

### РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

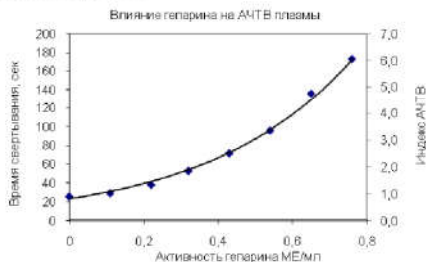
В процессе измерения АЧТВ регистрировать время от момента добавления в кювету коагулометра раствора кальция хлорида до момента образования сгустка.

Результаты измерения активированного частичного тромбопластинного времени пациента должны включаться в отчет как «АЧТВ в секундах». Эти результаты должны соотноситься с нормальным диапазоном значений АЧТВ, принятым в лаборатории для данного реагента, который также должен быть включен в отчет.

Значения АЧТВ контрольной плазмы никогда не должны использоваться в качестве нормального диапазона.

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

На графике приведен пример зависимости времени свертывания плазмы от содержания в ней различного количества нефракционированного гепарина, полученного с использованием конкретной серии АЧТВ-реагента.



Следует учитывать, что:

- Время от взятия образца крови до проведения анализа должно быть не более 1 часа, так как период полураспада нефракционированного гепарина составляет около 1,5 ч.
- Образец крови для анализа должен быть отобран таким образом, чтобы предотвратить агрегацию и активацию тромбоцитов с последующим выбросом фактора PF4, инактивирующего гепарин.

- Когда возможно, следует до начала терапии гепарином установить базовые показатели АЧТВ пациента.

- Значения АЧТВ могут меняться в зависимости от используемых методик, оборудования, партий реагента и гепарина, поэтому каждой лаборатории следует принять собственные терапевтические диапазоны, и проверять их при изменении одного из перечисленных факторов.

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

### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок годности набора – 24 месяца. Набор стабилен в течение всего срока годности реагента при условии хранения в укуленном виде при температуре 2-8°C.

Транспортирование набора допускается при температуре +18-25°C в течение 2 недель.

Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укуленном состоянии.

#### Стабильность приготовленных реагентов

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

#### Стабильность кальция хлорида 0,025M раствора

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

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические АЧТВ следует контролировать с помощью Плазмы контрольной (пул здоровых доноров) Плазма Н производства НПО РЕНАМ, код КМ-1.

### МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СанПин 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с Набором АЧТВ-тест 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 больших гемофилий» по адресу:*

125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2.

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

e-mail: [info@renam.ru](mailto:info@renam.ru)

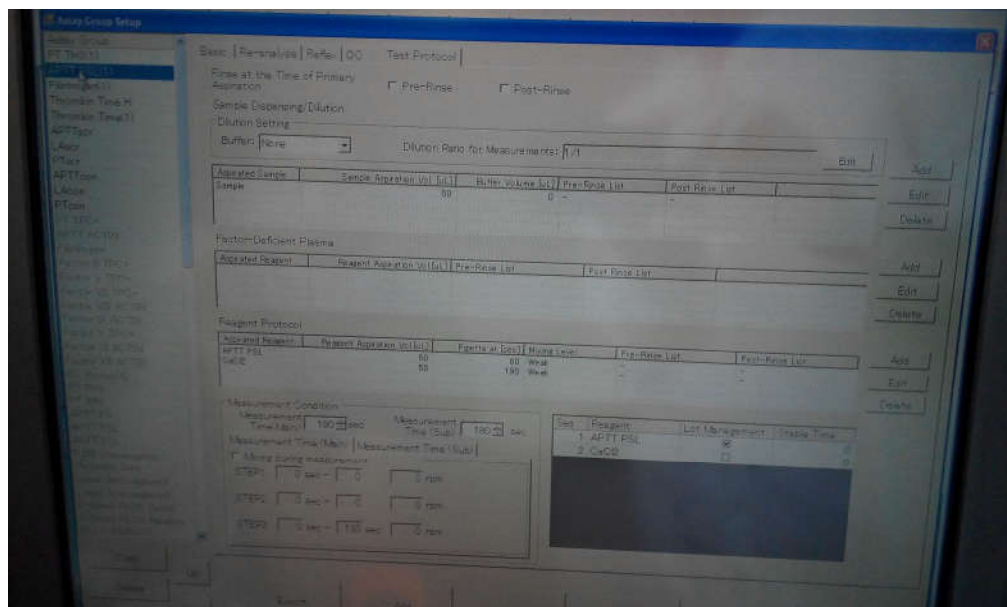
## Программирование прибора

Подготовка и проведение теста реагентами Ренам не отличается от стандартных методик, проводимых на реагентах, рекомендуемых к использованию.

Для диагностики активированного частичного тромбопластинового времени рекомендуется использовать реагент АЧТВ-тест (кат № ПГ-7/1) на стандартном протоколе **APTT FS**.

С целью **сохранения возможности одновременной работы** на различных реагентах рекомендуется в меню **Assay Group** скопировать стандартный тест APTT FS путём нажатия кнопки **Copy** под окошком со списком тестов.

Пример данного протокола приведён ниже:





Для удобства работы флаконы с реагентами снабжены штрихкодами.



При отсутствии данных реагентов или лотов реагентов в памяти прибора необходимо однократный ввод данной информации, через меню **Reagent Master** и **Lot Master**.

Анализ пациентов производится в соответствии со стандартными рекомендациями и требованиями инструкции по эксплуатации, прилагаемой к данному коагулометру.

Пример окна загрузки реагентов:



## Пример Паспорта

Набора реагентов для определения активированного частичного  
тромбопластинового времени (АЧТВ)

АЧТВ-тест

Серия № 3215

Годен до 10.17

№ 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 0,025М раствора, с.0315	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
4	Растворимость АЧТВ-реагента, минут, не более	1	Соответствует
5	АЧТВ здоровых доноров, сек		<b>24 - 34</b>
6	Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ, % не более	10	Соответствует
7	Допустимое отклонение продолжительности АЧТВ от аттестованного значения, % не более	10	Соответствует

ОТК

Разработчик и изготовитель:

МБООИ Общество больных гемофилией

НПО РЕНАМ

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

тел. (495) 225-1261, (499) 707-76-30

## **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 (Fbg)

Для количественной оценки содержания фибриногена по Клауссу с помощью коагулометра Sysmex CS-2100i НПО РЕНАМ рекомендует использовать тест-систему Фибриноген-тест (кат. № ПГ-10/1). Рекомендуется использовать методику определения фибриногена по стандартному протоколу **Fibrinogen**.

В качестве калибратора используется плазма-калибратор, входящая в состав набора Фибриноген-тест.

В качестве контроля в нормальной области рекомендуется использовать контрольную плазму «Плазма Н» (кат. № КМ-1), аттестованную по 6 основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной и патологической областях.



**ИНСТРУКЦИЯ**

**по применению Набора реагентов для определения содержания фибриногена (Фибриноген-тест)**

**НАЗНАЧЕНИЕ**

Определение содержания фибриногена в плазме крови человека является одним из основных тестов при исследовании гемостаза. Тест предназначен для измерения содержания фибриногена в плазме при гиперфибриногемии, которая связана с тяжестью воспалительных, иммунных, деструктивных процессов, а также является одним из факторов повышенного риска развития гипервискозного синдрома, артериальных тромбозов и инфарктов органов, а также при остром ДВС-синдроме, при лечении фибринолитиками, при врожденных гипо- и дисфибриногемиях. Набор реагентов предназначен для работы на всех типах полуавтоматических и автоматических коагулометров.

**ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

**Состав набора**

1. Тромбин человека, лиофильно высушенный (2 мл) - 8 флаконов;
2. Плазма-калибратор, лиофильно высушенная (1 мл) - 1 флакон;
3. Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) - 1 флакон.

**Число анализируемых проб биологического материала**

Один набор предназначен для проведения 320 анализов при расходе 50 мкл тромбина на один анализ или 160 анализов при расходе 100 мкл тромбина на один анализ.

**Принцип метода.** Измеряется время свертывания разбавленной в 10 раз цитратной плазмы крови при добавлении избытка тромбина. В этой системе время образования сгустка фибрина зависит только от концентрации в плазме фибриногена, определяемой по калибровочному графику разведенной плазмы-калибратора с установленным содержанием фибриногена.

**АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

**Специфичность**

В специально разработанной Клауссом системе с избытком тромбина и сильным разведением исследуемой плазмы время образование сгустка фибрина определяется только активным фибриногеном. Следующие вещества не влияют на правильность определения фибриногена: билирубин в концентрации до 0,6 г/л, свободный гемоглобин – до 5 г/л, триглицериды – до 6 г/л и нефракционированный гепарин – до 1 МЕ/мл. При превышении указанных концентраций возможно получение ложно заниженных результатов.

**Чувствительность**

В норме содержание фибриногена составляет 1,8 – 4,0 г/л. В зависимости от чувствительности коагулометра метод позволяет определять 0,6 г/л фибриногена.

**Воспроизводимость**

Допустимое отклонение содержания фибриногена в плазме-калибраторе от аттестованного значения не более 5%.

Коэффициент вариации результатов определения не превышает 5%. Допустимый разброс результатов определения концентрации фибриногена в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10%.

Точные значения содержания фибриногена в плазме-калибраторе устанавливаются при аттестации каждой серии и указывают в паспорте.

**Линейность**

Линейность определения от 0,6 до 6,0 г/л

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro*. Класс опасности 2а.

При работе с набором реагентов следует соблюдать правила, описанные в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Инструкция утверждена Минздравом СССР в 1991 г.).

При работе с исследуемыми образцами крови пациентов следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, т.к. образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

**ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

- Коагулометр любого типа с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М) или
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- вода дистиллированная;
- мерный цилиндр;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

**АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

**Вид анализируемого биологического материала**

Набор реагентов Фибриноген-тест предназначен для определения концентрации фибриногена в плазме человеческой крови. Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

**Процедура получения биологического материала**

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% (0,109 моль/л) цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре (18-25°С) в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 г).

Плазму крови непосредственно после получения или анализируют сразу, или помещают во флаконы с плотно закрывающимися крышками, замораживают и хранят при температуре не выше -20°С. При таких условиях образцы пригодны для анализа в течение 2-х месяцев.

**Условия хранения биологического материала**

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 ч при комнатной температуре (18-25°С) и не более 8 ч при температуре 2-8°С. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18-20°С и хранение при этой температуре не более 2 мес.

**Ограничения по использованию биологического материала**

При работе с кровью общим правилом является немедленное отделение плазмы от форменных элементов, так как некоторые вещества могут поглощаться и инактивироваться эритроцитами и лейкоцитами.

Повторное замораживание образцов исследуемой плазмы не допускается, т.к. при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная денатурация белковых веществ.

**ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Рабочий буферный раствор.** Буфер имидазоловый концентрированный развести в 20 раз (содержимое флакона перенести в мерную емкость, довести до 100 мл дистиллированной водой и тщательно перемешать). Рабочий буферный раствор хранить при температуре +2-8°С не более 1 месяца.

**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 покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

**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.

#### ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

##### Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на коагулометре программу для определения фибриногена по методу Клаусса.
- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки коагулометра.
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу измерения.
- Считать результаты.

##### Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре

###### Построение калибровочного графика

Использовать только пластиковые пробирки. Приготовить следующие разведения плазмы-калибратора:

Пробирка, №	1	2	3	4
Содержание фибриногена в плазме-калибраторе, г/л	2А*	А	0,5А	0,25А
Рабочий буферный раствор, мл	0,8	0,5	0,5	0,5
Раствор плазмы-калибратора, мл	0,2	-	-	-
Перемешать и перенести в пробирку, мл	0,5	0,5	0,5	

\*А – содержание фибриногена в плазме-калибраторе указано в паспорте на набор.

##### Проведение анализа

Исследуемую плазму больного развести рабочим буферным раствором в 10 раз.

Внести в ячейку анализатора:	Объем
Разведенная плазма-калибратор (исследуемая), мкл	100
Инкубировать при 37°С точно 2 минуты.	
Тромбин для определения фибриногена, мкл	50

#### РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрируют время от момента добавления тромбина до момента образования густка.

- Для полуавтоматических и автоматических коагулологических анализаторов следует воспользоваться программой Фибриноген-тест соответствующего анализатора.
- Для некоторых полуавтоматических коагулометров следует в меню настройки прибора выбрать чувствительность, соответствующую данному тесту.
- Для полуавтоматических коагулометров следует обратить внимание на рекомендации производителя по разведениям плазмы-калибратора и исследуемых образцов.
- Калибровочный график должен быть построен для каждой серии реагентов.
- При построении калибровочного графика вручную значения содержания фибриногена в разведениях плазмы-калибратора в г/л, отложить на оси Х билогарифмической координатной сетки, прилагаемой к инструкции. На оси Y отложить значения времени свертывания каждого разведенного образца плазмы-калибратора в секундах. Через полученные точки провести калибровочный график, который должен представлять собой прямую линию в диапазоне концентраций фибриногена от 0,6 – 1,0 до 5 – 6 г/л в зависимости от чувствительности коагулометра. По калибровочному графику определить содержание фибриногена в плазме пациента в г/л.
- При анализе плазмы пациентов с высоким (более 4,0 г/л) содержанием фибриногена развести плазму в 20 раз, а полученное по графику значение умножить на 2. Если содержание фибриногена в плазме пациента около 1,0 г/л, для уточнения полученного результата необходимо развести плазму в 5 раз и полученный результат разделить на 2.
- В состав тромбина входит инактиватор гепарина, что позволяет использовать данный реагент для измерения содержания фибриногена на фоне гепаринотерапии.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения содержания фибриногена следует контролировать с помощью Плазмы контрольной (пул здоровых доноров) Плазма Н, код КМ-1.

#### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 24 месяца. Набор стабилен в течение всего срока годности реагента при условии хранения в укупоренном виде при температуре 2-8°С. Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укупоренном состоянии.

##### Стабильность приготовленных реагентов

Реагенты	+2-8°С	+18-25°С	-18-20°С
Раствор тромбина	14 суток	2 суток	2 месяца
Раствор плазмы – калибратора	8 часов	4 часа	2 месяца
Буферный раствор	1 месяц	-	-

Транспортирование наборов должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°С. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°С не более 10 сут. Замораживание наборов не допускается.

#### МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с набором реагентов Фибриноген-тест 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 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2. тел/факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: [info@renam.ru](mailto:info@renam.ru)*

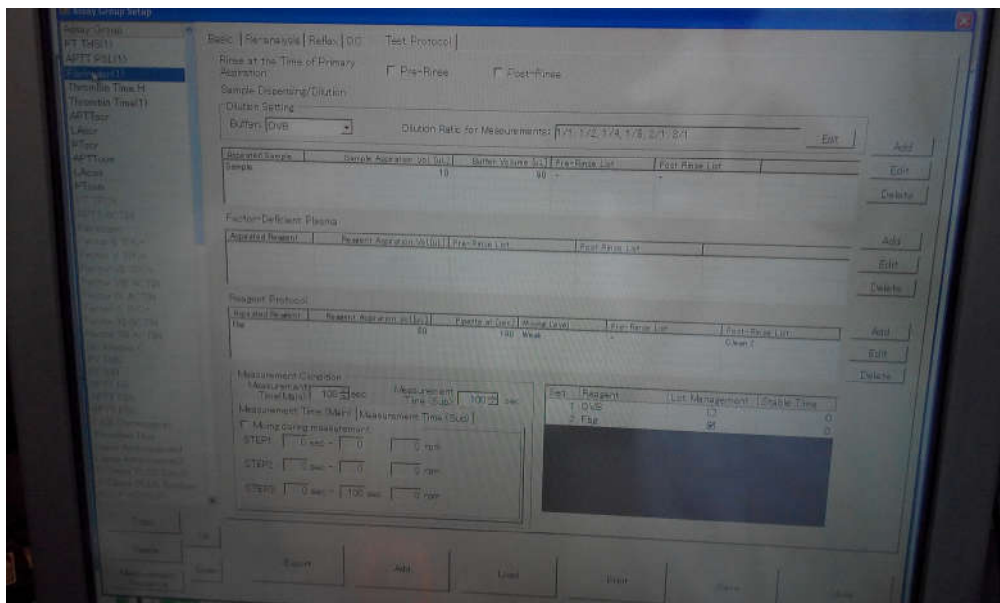
## Программирование прибора

Подготовка и проведение теста реагентами Ренам не отличается от стандартных методик, проводимых на реагентах, рекомендуемых к использованию.

Для определения количества фибриногена по методу Клаусса рекомендуется использовать реагент Фибриноген-тест (кат № ПГ-10/1) на стандартном протоколе **Fibrinogen**.

С целью **сохранения возможности одновременной работы** на различных реагентах рекомендуется в меню **Assay Group** скопировать стандартный тест Fibrinogen путём нажатия кнопки **Copy** под окошком со списком тестов.

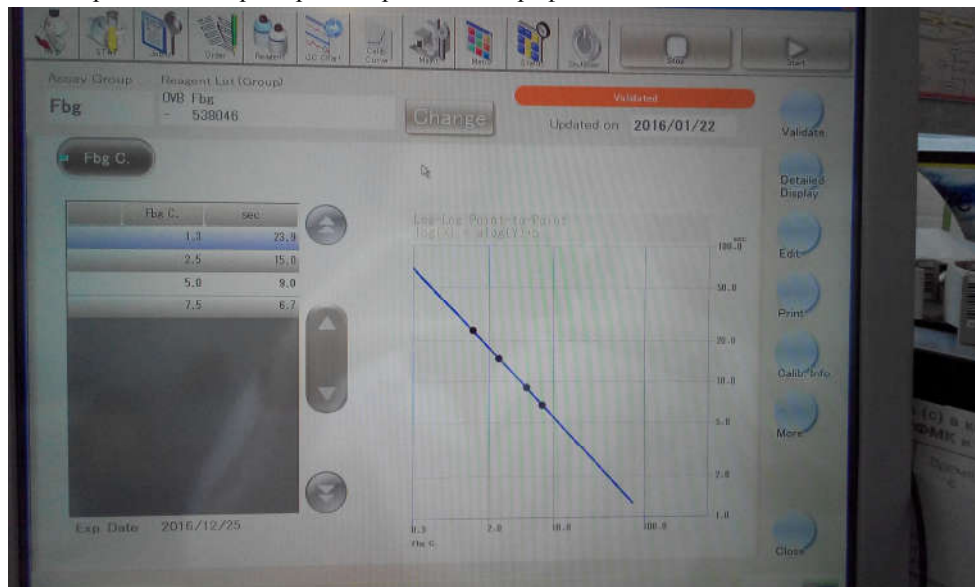
Пример данного протокола приведён ниже:



## Построение калибровочного графика.

Построение калибровочной кривой выполняется в соответствии с инструкцией по работе на данном автоматическом коагулометре.

Ниже представлен пример калибровочного графика:



Для удобства работы флаконы с реагентами снабжены штрихкодами.



При отсутствии данных реагентов или лотов реагентов в памяти прибора необходимо однократный ввод данной информации, через меню **Reagent Master** и **Lot Master**. **Анализ пациентов** производится в соответствии со стандартными рекомендациями и требованиями инструкции по эксплуатации, прилагаемой к данному коагулометру.



## Пример паспорта к набору Фибриноген-тест

Набора реагентов для определения содержания фибриногена  
Фибриноген-тест

Серия № 3615

Годен до:11.17

№ 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.0415	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. 3315	1,8 – 3,5	<b>2,50</b>
6	Допустимое отклонение содержания фибриногена в плазме-калибраторе от аттестованного значения, % не более	5	Соответствует
7	Чувствительность, г/л не более	0,9	Соответствует
8	Линейность в диапазоне концентраций 0.6-5.0 г/л отклонение в % не более	5	Соответствует
9	Коэффициент вариации результатов определения, % не более	5	Соответствует

ОТК

Разработчик и изготовитель:  
МБООИ Общество больных гемофилией  
НПО РЕНАМ  
125167 Москва, Новый Зыковский пр., 4  
тел. (495) 225-1261, (499) 707-76-30

### Интерпретация результатов.

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

## **Определение тромбинового времени (ТТ)**

Для оценки ТВ с помощью коагулометра Sysmex CS-2100i 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 6 основным параметрам (ПВ, АЧТВ, ТВ, УФ, АТ III) в нормальной и патологической областях.



## ИНСТРУКЦИЯ

### по применению Набора реагентов для определения тромбинового времени (Тромбин-реагент)

#### НАЗНАЧЕНИЕ

Тест тромбинового время предназначен для оценки конечного этапа свертывания крови, т.е. скорости превращения фибриногена в фибрин, для определения функциональной активности фибриногена и ингибиторов тромбина в плазме, таких как:

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

Набор реагентов предназначен для работы на всех типах полуавтоматических и автоматических коагулометров.

#### ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

##### Состав набора

Тромбин-реагент лиофильно высушенный - 9 флаконов;  
Растворитель для тромбин-реагента, концентрат (6 мл) 1 флакон.

##### Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 180 анализов при использовании тромбина с активностью 9 МЕ/мл, 270 анализов при использовании тромбина с активностью 6 МЕ/мл и 540 анализов при использовании тромбина с активностью 3 МЕ/мл при расходе реагента по 100 мкл на анализ.

##### Принцип метода

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

#### АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения фибриногена: билирубин в концентрации до 0,2 г/л, свободный гемоглобин – до 5 г/л, триглицериды – до 5 г/л. Определение тромбинового времени используется для контроля за гепаринотерапией и фибринолитической терапией, для диагностики активации фибринолиза.

Укорочение тромбинового времени наблюдается при гиперфибриногемии (концентрация фибриногена более 6 г/л).

Удлинение тромбинового времени наблюдается при гипо- и дисфибриногемиях; гепаринотерапии; наличии ингибиторов полимеризации фибрина (парапротеинов, продуктов деградации фибрина/фибриногена и др.); тромболитической терапии (например, при применении урокиназы, стрептокиназы). Нормальная область времени свертывания составляет:

- при активности тромбина 9 МЕ/мл - 7–9 сек.
- при активности тромбина 6 МЕ/мл - 9–12 сек;
- при активности тромбина 3 МЕ/мл - 15–20 сек;

##### Чувствительность Тромбина к гепарину

Все рабочие растворы тромбина чувствительны к присутствию гепарина в исследуемой плазме, для мониторинга за введением гепарина рекомендуется использовать тромбин с активностью 9 МЕ/мл. Тест тромбинового время не зависит от внешней и внутренней системы активации, но зависит от концентрации фибриногена, наличия аномального фибриногена, от активности антитромбинов, процессов полимеризации и стабилизации фибрина.

##### Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения тромбинового времени не превышает 5%.

Допустимый разброс результатов определения тромбинового времени в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10%.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro*.

Класс опасности 2а.

При работе с набором реагентов следует соблюдать правила, описанные в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Инструкция утверждена Минздравом СССР в 1991 г.). При работе с исследуемыми образцами крови пациентов следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, т.к. образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

#### ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Коагулометр любого типа с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- цилиндр мерный, объемом 100 мл;
- термобаня на 37°C и секундомер (для ручного определения);
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М);
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

#### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

##### Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов Тромбин-реагент предназначен для определения тромбинового времени в плазме человеческой крови. Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

##### Процедура получения биологического материала

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% (0,109 моль/л) цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре (18-25°C) в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 г). Плазму крови непосредственно после получения или анализируют сразу, или помещают во флаконы с плотно закрытыми крышками, замораживают и хранят при температуре не выше -20°C. При таких условиях образцы пригодны для анализа в течение 2-х месяцев.

##### Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 ч при комнатной температуре и не более 8 ч при температуре 2-8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18-20°C и хранение при этой температуре не более 2 мес.

## Ограничения по использованию биологического материала

При работе с кровью общим правилом является немедленное отделение плазмы от форменных элементов, так как некоторые вещества могут поглощаться и инактивироваться эритроцитами и лейкоцитами. Повторное замораживание образцов исследуемой плазмы не допускается, т.к. при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная деградация белковых веществ.

## ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

### Тромбин-реактент

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

Активность, МЕ/мл	Объем растворителя, мл
9	2
6	3
3	6

Тромбин-реактент готов к проведению анализа через 15 минут после приготовления. Тромбин-реактент перед анализом не прогревать при температуре 37°C.

## ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на коагулометре программу для определения тромбинового времени.
- Поместить флаконы с приготовленными реактентами в соответствующие ячейки коагулометра.
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу измерения.
- Считать результаты.

### Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре и ручным методом на термобане

Внести в кювету анализатора или в пробирку на термобане:	Объем, мкл
Плазма исследуемая (контрольная)	100
Инкубировать при температуре 37°C точно 2 мин.	
Рабочий раствор тромбина	100

## РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

В процессе измерения тромбинового времени зарегистрировать время от момента добавления к цитратной плазме тромбина до момента образования сгустка.

### Стандартизация Тромбина

Каждая серия Тромбина 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.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения содержания фибриногена следует контролировать с помощью Плазмы контрольной (пул здоровых доноров) Плазма Н, код КМ-1.

## УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок годности набора – 24 месяца. Набор стабилен в течение всего срока годности реактента при условии хранения в укрупненном виде при температуре 2-8°C. Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно закупоренном состоянии.

### Стабильность приготовленных реактентов

Активность МЕ/мл	2-8°C	18-25°C	-18-20°C*
9	3 сут	1 сут	2 мес.
6	3 сут	1 сут	2 мес.
3	3 сут	1 сут	2 мес.

Транспортирование наборов должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание наборов не допускается.

## МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с Набором Тромбин-реактент 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:*

*125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2.*

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

*e-mail: [info@renam.ru](mailto:info@renam.ru)*



# Пример паспорта на Тромбин-реагент

Набор реагентов для определения тромбинового времени

Тромбин-реагент

Серия № 4715

Годеи до:12.17

№ п/п	Наименование показателя	По ТУ 9398-012-05595541-2007	Фактическое значение	
1	Внешний вид тромбин-реагента	Пористая масса белого цвета	Соответствует	
	Внешний вид концентрата растворителя, с.1615	Прозрачный бесцветный раствор	Соответствует	
2	Растворимость тромбин реагента	Менее 3 минут	Соответствует	
3	Время свертывания Контрольной плазмы рабочим раствором тромбина с активностью, сек	9 IU/мл	7 - 9	Соответствует
		6 IU/мл	10 - 13	Соответствует
		3 IU/мл	14 - 20	Соответствует
4	Коэффициент вариации результатов определения тромбинового времени, % не более	10	Соответствует	
5	Межфлаконная вариация. %	10	Соответствует	

ОТК

Разработчик и изготовитель:

МБООИ Общество больных гемофилией  
НПО РЕНАМ

125167 Москва, Новый Зыковский пр., 4

тел. (495) 225-1261, (499) 707-76-30

## Интерпретация результатов.

Нормальная область для теста Тромбиновое время:

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

По всем вопросам, связанным с работой реагентов, помощью в проведении адаптаций Вы можете обращаться по бесплатному номеру телефона 8-800-200-90-57 к специалистам по продукции Кишинцу Роману Сергеевичу и Хурдину Вячеславу Викторовичу.