

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:

- диагностики наследственных и приобретенных коагулопатий;
- диагностики заболеваний печени.

Тромбопластин-кальциевый реагент (ТКС), лиофильно высушенный, получен из мозга кроликов, предназначен для определения протромбинового времени в плазме венозной крови. Результаты определения могут быть выражены в значениях протромбинового отношения, протромбина по Квику и протромбинового индекса.

Реагент.

Тромбопластин с кальцием (8мл) код ПГ-4/1

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.

ТКС. Внести во флакон с лиофильно высушенной ТКС 8 мл дистиллированной воды и растворить при покачивании. Перед проведением анализа полученную тромбопластин-кальциевую смесь прогреть при 37°C в течение 30 минут.

Стабильность ТКС.

+37°C	+18-22°C	+2-8°C	-18-20°C
8 часов	2 дня	7 дней	3 месяца

Получение исследуемой плазмы для анализа.

Венозную кровь взять в силиконированную стеклянную или пластиковую пробирку на 3,8% (0.11моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1, центрифугировать 7 мин при 1000 об/мин (240g), плазму перенести в другую пробирку и повторно центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200g). 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 фактора VII. Допускается однократное замораживание плазмы при -20°C.

Допускается для получения бедной тромбоцитами плазмы однократное центрифугирование крови при 3000 об/мин (1200g) в течение 15 мин.

Для клинико-диагностических лабораторий, использующих в качестве контроля свежий пул донорской плазмы, необходимо приготовить рабочий материал по схеме, предложенной выше. Полученный пул необходимо разлить в пластиковые пробирки эппендорф и быстро заморозить при -20°C.

Проведение анализа.

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

Внести в кювету анализатора:	Объем
Плазма контрольная (исследуемая)	100мкл
Инкубировать при 37°C точно 1-2 минуты.	
ТКС	200 мкл
Зафиксировать время свертывания в секундах на коагулометре.*	

*Конечную точку свертывания можно зафиксировать визуально.

Выражение полученных результатов.

- Протромбиновое Отношение (ПО).

$$ПО = \frac{ПВ_Б}{ПВ_{100\%}}, \text{ где}$$

ПВ_Б – протромбиновое время плазмы больного в секундах.

ПВ_{100%} – протромбиновое время 100%-ого свежего пула донорской плазмы в секундах.

Клинико-диагностическим лабораториям рекомендуется использо-

вать для определения значения ПВ_{100%} контрольную плазму НПО Ренам. При этом значение ПВ_{100%} рассчитывают по формуле:

$$ПВ_{100\%} = \frac{ПВ_К}{ПО_К}, \text{ где}$$

ПВ_К - протромбиновое время контрольной плазмы (определяется одновременно с исследуемым образцом).

ПО_К – протромбиновое отношение контрольной плазмы (указано в паспорте на плазму, не входит в состав набора).

Значение ПВ_{100%} может быть внесено в компьютеры современных моделей коагулометров для автоматического расчета ПО.

- Протромбиновый индекс (ПИ).

$$ПИ_Б = \frac{ПВ_{100\%}}{ПВ_Б} \times 100\%, \text{ где}$$

- Процент протромбина по Квику, в %.

Построение и использование калибровочного графика.

Готовят ряд разведений контрольной плазмы физиологическим раствором по следующей схеме (точные значения протромбина в % указываются в паспорте на плазму).

Протромбин по Квику в контрольной плазме в %	A*%	0.5A%	0.25A%
Контрольная плазма	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл
Физиологический раствор	-	0,5 мл	1,5 мл

*А – аттестованное значение протромбина по Квику (%) в контрольной плазме.

Для каждого разведения контрольной плазмы определяют протромбиновое время (ПВ) в секундах и наносят полученные значения на координатную сетку (см. оборот). Строят калибровочный график зависимости ПВ от процента протромбина по Квику. Затем определяют ПВ в исследуемых образцах и по графику рассчитывают процент протромбина 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, считанный из калибровочного графика, должен быть умножен 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.

Чувствительность ТКС к гепарину.

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

Интерпретация результатов.

Нормальная область.

Протромбиновое время – 14 – 18секунд.

Процент протромбина по Квику – 70 – 130%.

Протромбиновое Отношение – 0.9 – 1.1.

Протромбиновый индекс – 90 – 105%.

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 одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, 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.

Контроль качества.

Нормальные и патологические значения протромбинового отношения, протромбинового индекса, протромбина по Квику следует контролировать с помощью контрольных плазм НПО РЕНАМ:

Плазма контрольная на 4 параметра (Плазмы Н) код КМ-1
Плазма контрольная на 11 параметров код КМ-2

*По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в
НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адре-
су: 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*

Таблица пересчета значений % протромбина в 1/% протромбина

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

