

Код за НК 024:2019 - 55986

ТУ У 20.5-24607793-025:2019

ІНСТРУКЦІЯ ЩОДО ЗАСТОСУВАННЯ НАБОРУ РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ПРОТРОМБІНОВОГО ЧАСУ ПЛАЗМИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ФІБРИНОГЕНУ (НАБІР «ФІЛОПЛАСТИН»)

ПРИЗНАЧЕННЯ

IVD

Набір призначений для визначення протромбінового часу (ПЧ) плазми (за методом Квіка) та визначення концентрації фібриногену (за методом Рутберг) в клініко-діагностичних лабораторіях і науково - дослідницькій практиці.

Набір розрахований на відповідну кількість проведення аналізів (при витраті розчину робочого реагенту **Суспензії тромбопластину** 2x100 мкл на визначення ПЧ та 100 мкл на визначення фібриногену).

REF	ПЧ	Фібриноген	REF	ПЧ	Фібриноген
<u>HP046.01</u>	500	1000	<u>HP046.02</u>	3000	5000
<u>HP046.03</u>	500	1000			

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 6%.

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Зберігати в захищеному від світла місці!

Заморожування реагенту не допускається!

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Даний тест являє собою одностадійне визначення часу згортання плазми.

Надлишок тромбопластину (фактор III, тромбіназа) перетворює протромбін цитратної плазми крові в присутності іонів кальцію в активний фермент тромбін, що трансформує фібриноген плазми крові в нерозчинний фібрин. Час утворення згустка фібрину залежить тільки від активності факторів зовнішнього і загального шляху коагуляції: I, II, V, VII, X. Визначається час від моменту додавання до суміші тромбопластину і іонів кальцію досліджуваної плазми до моменту утворення згустку фібрину.

У разі неможливості в лабораторії визначення концентрації фібриногену за Клауссеном, тромбопластин може бути використаний для визначення концентрації фібриногену за Рутберг. Для виконання цієї методики додатково потрібен кальцію хлорид (5,54% розчин).

СКЛАД НАБОРУ

1. Тромбопластин активність за Квіком зазначена на етикетці флакону, сек	<u>HP046.01</u> , <u>HP046.03</u> – 1 флакон з (1,00 ± 0,05) г <u>HP046.02</u> – 5 флаконів по (1,00 ± 0,05) г
2. Розчин кальцію хлористого (0,0250 ± 0,0005) М Точне значення концентрації іонів кальцію зазначено на флаконі	<u>HP046.03</u> – 10 флаконів по (10 ± 1) мл
3. Додатковий реагент	Розчин кальцію хлористого (0,0250 ± 0,0005) М - додатковий реагент, до складу наборів <u>HP046.01</u> , <u>HP046.02</u> не входить
4. Додатковий реагент	Розчин кальцію хлористого (5,54 %) - додатковий реагент, до складу наборів <u>HP046.01</u> , <u>HP046.02</u> та <u>HP046.03</u> не входить
5. Додатковий реагент	Фізіологічний розчин (0,9% розчин натрію хлориду); до складу наборів не входить
6. Додатковий реагент	3,8% розчин 3-х заміщений цитрат натрію (0,109 М); до складу наборів не входить

АНАЛІЗУЄМИЙ МАТЕРІАЛ

Плазма. Зразки плазми крові для аналізу не повинні бути гемолізовані, містити згустки, домішки еритроцитів, не повинні контактувати зі скляною поверхнею.

Процедура отримання біологічного матеріалу. Кров для дослідження забирають з ліктьової вени в пластикову або силіконіровану пробірку, що містить 3,8% розчин (0,109 моль/л) цитрату натрію в співвідношенні **9 : 1** або в вакуумній системі для взяття крові з 3,2% (0,109 моль/л) цитрату натрію, центрифугують при кімнатній температурі від плюс 18 °С до плюс 25 °С протягом **15 хвилин** при **3000 об/хв** (1200g). В результаті отримують **бідну тромбоцитами** плазму, яку переносять в іншу пробірку, де зберігають до проведення дослідження.

Умови зберігання біологічного матеріалу. Час зберігання досліджуваної плазми до аналізу - не більше 8 годин при кімнатній температурі від плюс 18 °С до плюс 25 °С. Для даного аналізу не допускається зберігання зразків біологічного матеріалу при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С у зв'язку з можливістю холодової активації фактора VII.

Обмеження щодо використання біологічного матеріалу. При роботі з кров'ю загальним правилом є негайне відділення плазми від формених елементів, так як деякі речовини можуть поглинатися та інактивуватися еритроцитами і лейкоцитами.

ОБЛАДНАННЯ

- 1 Вакуумні системи для взяття крові з 3,2% 3-х заміщеним цитратом натрію (0,109 моль/л) (Див. **Примітку**) (згідно з чинними нормативними документами);
- 2 Центрифуга лабораторна (згідно з чинними нормативними документами);
- 3 Водяний термостат або автоматична водяна баня, здатні підтримувати температуру (плюс 37 ± 1) °С (згідно з чинними нормативними документами);
- 4 Секундомір (згідно з чинними нормативними документами);
- 5 Піпетки напівавтоматичні одноканальні змінного об'єму, що дозволяють відібрати 50-200 мкл і 200-1000 мкл (Див. **Примітку**) (згідно з чинними нормативними документами);
- 6 Пробірки пластикові місткістю 10 мл (згідно з чинними нормативними документами);
- 7 Рукавички медичні діагностичні одноразові (згідно з чинними нормативними документами).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. **Суспензія тромбопластину.** В ступці розтирають 10 мг тромбопластину в 1 мл дистильованої води і центрифугують. Використовують центрифугат, який готують безпосередньо перед визначенням протромбінової активності.
2. **Розчин кальцію хлористого** (0,0250 ± 0,0005) М готовий до використання та стабільний до закінчення гарантійного терміну придатності (при дотриманні умов зберігання, вказаних на упаковці). Розкритий флакон можна використовувати повторно за умови зберігання при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С в щільно закупореному вигляді протягом 8 годин.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Протромбіновий час плазми (за методом Квика)

На водяну баню з температурою плюс 37°С поміщають дві аглютинаційні пробірки. В кожну пробірку вносять **100 мкл Розчин кальцію хлористого** (0,0250 ± 0,0005) М і **100 мкл центрифугату Суспензії тромбопластину**. Через **30 с** в першу пробірку додають **100 мкл** дослідної плазми і одночасно включають секундомір. Пробірку струшують до виникнення згустку, відмічаючи час його утворення. Такі ж дії виконують для цього зразка плазми в другій пробірці. Із отриманих двох показників обраховують середнє арифметичне, це і є протромбіновим часом дослідної плазми.

Визначення концентрації фібриногену (за методом Рутберга)

1. У пробірці послідовно змішати 1000 мкл досліджуємої **бідної** тромбоцитами плазми крові, **100 мкл центрифугату Суспензії тромбопластину** і **100 мкл Розчину кальцію хлористого** (5,54%).
2. Пробірку струсити і помістити на водяну баню при температурі плюс 37 °С.
3. Через 10 хв згусток, що утворився, перенести на фільтрувальний папір і висушити шляхом стиснення і переміщення згустку по фільтру. Висушування зробити до втрати на фільтрі слідів вологи.
4. Потік фібрину витримати на відкритому повітрі при кімнатній температурі від плюс 18 °С до плюс 25 °С протягом 15-20 хв і зважити на терезах з точністю до 1 мг.

РОЗРАХУНОК

Результати **протромбінового тесту** також можуть бути виражені як протромбіновий індекс, %.

Протромбіновий індекс (в %) визначається за формулою (1):

$$PI = \frac{ПЧ_{кп}}{ПЧ} \times 100 \%, \text{ де} \quad (1)$$

- ПІ - протромбіновий індекс;
- ПЧ_{кп} - протромбіновий час контрольної нормальної плазми, сек;
- ПЧ - протромбіновий час досліджуваної плазми, сек;
- 100 - перерахунок показника у відсотки.

Концентрацію **фібриногену** (в г/л) знаходять при множенні маси сухого фібрину (в мг) на коефіцієнт **0,2**.

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ

Протромбіновий час, сек	12 – 18
Протромбіновий індекс, %	90 – 105

У нормі вміст фібриногену в плазмі складає 2,0-4,0 г/л.

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати Плазму контрольну (пул здорових донорів). Наприклад: «РНП-плазма», «Плазма Н, код КМ-1», «Протромбин-контроль, код КМ-17» (Росія).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Визначення протромбінового часу (ПЧ)- це високочутливий скринінговий тест, який виявляє порушення факторів зовнішнього шляху згортання крові (ф. II, V, VII і X) і рекомендується для:

- моніторингу терапії непрямими антикоагулянтами;
- діагностики спадкових і набутих коагулопатій;
- діагностики захворювань печінки.

Подовження протромбінового часу може бути пов'язане з:

- дефіцитом факторів зовнішнього шляху згортання (II, V, VII, X);
- дефіцитом вітаміну К;
- прийомом антикоагулянтів непрямой дії (наприклад, варфарину, синкумару та ін.);
- ДВС-синдромом (фаза гіпокоагуляції);
- афібриногенемією, гіпофібриногенемією, дісфібриногенемією;
- захворюванням печінки;
- антикоагулянтами прямої дії (дабігатран, ривароксабан, апіксабан);
- злоякісними пухлинами.

Скорочення протромбінового часу свідчить про:

- активацію зовнішнього шляху згортання і гіперкоагуляцію;
- підвищенні активності факторів зовнішнього шляху згортання;
- ДВС-синдром;
- активацію системи фібринолізу.

Визначення протромбінового часу використовується переважно для оцінки зовнішнього шляху коагуляції перед виконанням хірургічних операцій. Тест можна використовувати для контролю лікування гепарином, так як він нечутливий до факторів VIII, IX, XI, XII і дисфункції тромбоцитів.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Наступні речовини не впливають на правильність визначення протромбінового часу: білірубін в концентрації до 30 мг/л, вільний гемоглобін - до 100 мг/л, тригліцериди - до 6 г/л і

нефракціонований гепарин - до 0,6 МО/мл. При перевищенні зазначених концентрацій можливо отримання помилково завищених результатів визначення протромбінового часу. Присутність антикоагулянту червоного вовчачка і низький (менше 1 г/л) рівень фібриногену в досліджуваній плазмі також може призводити до отримання хибно завищених результатів.

На хід визначення також можуть впливати інші ліки і речовини.

ДЖЕРЕЛА ПОМИЛОК

Неточність або помилки в результатах, отриманих в процесі проведення тестів, може бути пов'язано з помилками, допущеними на стадії аналітичного етапу, а саме:

- внесенням в реагент сторонніх механічних забруднень;
- перехресним забрудненням кальцію хлористого іншими компонентами наборів або досліджуваною плазмою при повторному застосуванні накінецьників для піпеток;
- через погано або повторно прогрітий реагент. У цих випадках рекомендується повторно провести аналіз, використовуючи новий **Розчин кальцію хлористого** ($0,0250 \pm 0,0005$) М.

Щоб уникнути помилок при визначенні протромбінового часу потрібно:

1. Користуватися добре вимитим і висušеним посудом.
2. Проводити дослідження плазми не пізніше, ніж через 2 години з моменту взяття крові.
3. Суворо дотримуватися температурного режиму водяної бані.
4. Користуватися свіжеприготовленою суспензією тромбoplastину.
5. Точно відміряти реактиви і плазму в зазначених кількостях.

ПРИМІТКИ

Використовуйте тільки пластикові пробірки і накінецьники для дозаторів.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

При роботі заборонено їсти, пити, курити.

При роботі з біологічним матеріалом необхідно користуватися гумовими рукавичками.

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балуда В. П., Баркаган З. С, Гольдберг Е. Д. и др. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. — Томск, 1980, с. 169—170.
2. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., «Ньюдиамед», 2001.- 285 с.
3. Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.С., Козлов А.А. Внешний путь свертывания крови. Методы исследования. М. 2016.- 73 с.
4. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000.- 360 с.
5. Quick AJ, Stanly-Brown M, Bancroft FW. A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice. Am J Med Sci. 1935;190:501-11.
6. Ansell J, Hirsh J, Hylek E, et al. Pharmacology and management of the vitamin K antagonists. Chest. 2008; 133:160S-198S.
7. Poller L. The prothrombin time. WHO/LAB/98.3. 1998.
8. Tripodi A, Chantarangkul V, Clerici M, et al. Laboratory control of oral anticoagulant treatment by the INR system in patients with the antiphospholipid syndrome and lupus anticoagulant. Results of a collaborative study involving nine commercial thromboplastins. Br J Haematol. 2001;115:672-8.



ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,
Україна, 49051 м. Дніпро, вул. Каштанова, 32
Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34
Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54
E-mail: felicity@ukr.net <http://www.felicity.com.ua>