

Haemostaz-DAC-I



Set de reagenți pentru cercetarea parametrilor hemostazei (coagulare)	
PT MD 11-15796482-003:2003	
Instrucțiunea de utilizare	
Numai pentru diagnosticare «in vitro» A se păstra la 2-8°C	
Cod №	№ de înregistrare RM
4008H350	DM000118985

PRINCIPIUL METODEI

Setul de reagenți este destinat pentru cercetarea "verigii plasmei" sistemului de coagulare a sângelui prin metoda modelării procesului de coagulare "in vitro", și permite obținerea datelor despre etapele și verigile de bază de coagulare.

- Timpul de protrombină (PT): timpul coagulării plasmei cu număr redus de trombocite, în prezența cantității optime de calciu și exces de tromboplastină tisulară, **100 teste**.
- Timp de tromboplastină parțial/parțial activat (TTPA/ PTT): timpul de coagulare a plasmei cu conținut redus de trombocite, la adăugarea unei cantități optime de calciu în condițiile standardizării de activare a procesului de coagulare de contact (caolină) și de fosfolipide (eritrosfatidă), **80 teste**.
- Fibrinogenul: cantitatea de fibrină, formată la coagularea plasmei în prezența excesului de calciu, **100 teste**.
- Timp de trombină (TT): timpul coagulării plasmei cu conținut redus de trombocite, cu trombina activată standard, **30 teste**.
- Timpul de recalcificare activat (TRA): timpul coagulării plasmei, cu conținut bogat de trombocite, în prezența unei cantități optime de calciu în condițiile standardizării cu caolină a fazei de contact a coagulării, **60 teste**.

CARACTERISTICI DIAGNOSTICE

- Reducerea TRA indică la o creștere a coagulării sângelui (hipercoagulare), mărirea TRA – la o micșorare a coagulării (hipocoagulare). Mărirea TRA se observă în caz de trombocitopenie pronunțată, unele cazuri de trombocitopatie, deficitul de factori plasmatici (cu excepția factorilor VII și XIII), în caz de surplus de heparină în sânge și alți inhibitori de coagulare. În cazul, în care TTPA este normal, mărirea TRA indică dereglări în veriga trombotică a hemostazei.

- TTPA stabilește defectele plasmatice a «câii intrinseci» de formare a trombolastinei. Se mărește în cazul deficitului de factori plasmatici (cu excepția factorilor VII și XIII), cât și în cazul surplusului de anticoagulanți în sânge. Micșorarea TTPA indică activarea coagulării sângelui.

- IP este o probă de coagulare, care permite depistarea defectelor plasmatice a «câii extrinseci» de formare a trombolastinei. IP se micșorează în cazul deficitului factorilor VII, X, V, II, în deficitul de fibrinogen (< 1,0 g/l), și în cazul surplusului de anticoagulanți – antitrombine.

Micșorarea IP se observă în caz de boli ale ficatului, deficit de vitamina K, icter mecanic, surplus de anticoagulanți în sânge. Mărirea IP este prezentă în caz de supradozare cu vitamina K, în termen înaintat de gravitate.

- TT – probă de coagulare, care permite depistarea dereglărilor formării de fibrină ca urmare a dereglărilor calitative sau cantitative a fibrinogenului (hipo- și disfibrinogenemia), prezența inhibitorilor de trombină (heparină, produsele de degradare a fibrinogenului) și anticoagulanți patologici circulanți.

- Cantitatea de fibrinogen se mărește în caz de procese inflamatorii, dereglări în metabolismul proteic, perioada postoperatorie s.a. Numărul de fibrinogen se micșorează în caz de hipo- și disfibrinogenemie congenitală, boli ale ficatului și sindromul de coagulare intravasculară diseminată.

COMPONENȚA SETULUI

1.PT-Reagent	1 × 10,0 ml
Amestec liofil uscat de tromboplastină și calciu în soluție tampon, conține azid de sodiu în calitate de conservant.	
2.APTT-Reagent	1 × 4,0 ml
Cofalină a creierului de iepure și acid elagic ca activator în soluție tampon, cu stabilizatori și conservanți.	
3. Kaolin suspension	1 × 1,375 ml
Suspensie de caolină	
4. Calcium Chloride 5 %	1 × 10,0 ml
Clorură de calciu 5 %	
5.T-Reagent	1 × 3,0 ml
Trombină liofilizată	
6. Calcium Chloride 0,025 mol/l	1 × 20,0 ml
Clorură de calciu tamponată 0,025 mol/l	
7. Sodium Citrate	1 × 18,0 ml
După diluarea citratului de sodiu 3,8%	

PĂSTRAREA ȘI STABILITATEA REAGENȚILOR

Reagenții setului sunt stabili la păstrarea în ambalajul original, la temperatura 2-8°C până la data de expirare indicată pe etichetă.

PROBE

Sânge citrat: proba se va colecta dimineața pe nemâncate, din vena mediană cubitală. Se va utiliza un ac siliconat cu lumen larg, fără seringă și garou. Primele picături se vor înlătura deoarece conțin tromboplastină. Sângele se va pipeta într-o eprubeta din plastic care conține citrat de sodiu (3,8 %) în raportul 9:1.

Plasmă cu conținut bogat de trombocite: sângele citrat se va centrifuga 5 minute la 1000 tur/min. Plasma obținută se va transfera într-o eprubetă din plastic. Este stabilă 4 ore la 18-20°C.

Plasmă cu conținut redus de trombocite: sângele citrat se va centrifuga 20 minute la 4000 tur/min. Plasma obținută se va transfera într-o eprubetă din plastic. Este stabilă 4 ore la 18-20°C. Se admite o singură congelare pentru 3 săptămâni la minus 20-40°C sau în congelatoare la minus 4-12°C pentru 4-5 zile.

Atenție! Congelarea repetată a plasmei cu conținut redus de trombocite este inadmisibilă.

ECHIPAMENT ADIȚIONAL ȘI REAGENȚI

Termostat de apă la 37°C, cronometru, coagulometru.
Dozator cu volum variabil până la 5 ml. Dozator pentru 100 µl.
Plasmă normală și patologică pentru controlul calității cercetării (Control Plasma L1+L2).

PRECAUȚII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare **in vitro**.
Problele pacienților vor fi considerate ca material potențial contagios și se vor prelucra analogic celor contagioase.

PREPARAREA REAGENȚILOR DE LUCRU

- Citrat de sodiu:** 1 volum **Sodium Citrate** + 2 volume H₂O.
- Calcium Chloride 0,025 mol/l:** este gata pentru utilizare.
Se păstrează la 2-8°C până la apariția fulgilor. **Excludeți folosirea repetată a soluției încălzite anterior.**
- Suspensie de caolină:** în flaconul cu **Kaolin suspension** se va adăuga **5,5 ml** H₂O. Este stabilă 7 zile la 2-8°C.
- APTT-Reagent** Înainte de cercetare se va menține în stare de suspensie cu ajutorul amestecării. Este stabil 5 zile la 2-8°C după deschidere în flacoane ermetice închise.
- Trombină:** în flaconul cu **T-Reagent** adăugați **3,0 ml** de apă distilată. Incubați reagentul 30 min la temperatura 18-25°C, apoi amestecați cu atenție conținutul flaconului, fără să agitați, folosind bețisorul pentru amestecare. Evitați contactul lichidului cu capacul. Este stabil 7 zile la 2-8°C.
- Soluție de lucru de tromboplastină:** în flaconul cu **PT-Reagent** se va adăuga **10,0 ml** apă distilată. Este stabil 5 zile la 2-8°C. **Congelarea este inadmisibilă!**

VALORI DE REFERINȚĂ

Plasma sanguină:

Timp de recalcificare activat (TRA): 50-70 sec.
Timp de tromboplastină parțial activat (TTPA): 38-55 sec.
Indice protrombinic (IP): 90-105 %. Raportul protrombinic (RP): 0,9 – 1,1.
Protrombină după Quick, în % (după grafic) – 70-125 %.
Timp de trombină (TT): mai puțin de 30 sec.
Fibrinogen: 2 – 4 g/l.

Aceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referință în fiecare laborator.

MODUL DE LUCRU

TESTUL	ETAPA I	TIMPUL DE INCUBARE	ETAPA II
Timp de recalcificare activat (TRA)	0,1 ml plasmă, bogată în trombocite + 0,1 ml suspensie de caolină	5 min la 37°C	0,2 ml 0,025 mol/l sol. CaCl ₂
Timp de tromboplastină parțial activat (TTPA)	0,050 ml plasmă, cu nr. redus de trombocite + 0,050 ml APTT-Reagent	5 min la 37°C	0,050 ml 0,025 mol/l sol. CaCl ₂
Timp de protrombină (TP)	0,050 ml plasmă, cu nr. redus de trombocite	1 min la 37°C	0,10 ml amestec de tromboplastină și calciu
Timp de trombină (TT)	0,1 ml plasmă, cu nr. redus de trombocite	1 min la 37°C	0,1 ml trombină
Fibrinogen	1,0 ml plasmă, cu nr. redus de trombocite + 0,1 ml 5 % CaCl ₂		cântărirea fibrinei

Pentru determinarea fiecărui indice, cu excepția fibrinogenului, se va declanșa cronometrul și se va nota timpul formării coagulului de fibrină.

Rezultatul timpului de protrombină (TP) reflectă una din următoarele opțiuni:

- Fixează timpul de protrombină (TP), în sec. indicând valorile obținute la cercetarea plasmei de control.
- Calculează raportul protrombinei (RP) după formula:
TP bolnavului

$$PR = \frac{\text{TP plasmei de control}}{\text{TP plasmei de control}}$$

TP plasmei de control- timpul formării coagulului în plasma normală (specific pentru fiecare serie a setului, se determină cu ajutorul fiecărui laborator și depinde de utilajul folosit).

3. Determină activitatea complexului protrombinic după Quick (% de la normă).
Pentru determinarea activității complexului protrombinic după Quick (%) construiți graficul de calibrare a depinde TP (sec) de activitatea factorilor complexului plasmei protrombine normale (%). Forma graficului de calibrare este prezentată în anexa fiecărui set.

Pregătiți diluarea plasmei normale:

Nº probei	Plasma si diluarea ei	+	Soluția salină	Diluare	Protrombina plasmei normale,%
1	0,25 ml	+	0,0 ml	-	100
2	0,25 ml	+	0,25 ml	1+1	50
3	0,25 ml probele 2	+	0,25 ml	1+3	25

TP a fiecărei probe de plasmă diluată (sec) se va nota pe abscisa (X) iar protrombina după Quick (%) se va nota pe ordonata (Y).

4. Pentru pacienții tratați cu anticoagulante orale, se calculează Raportul Normalizat Internațional (RNI), International Normalized Ratio (INR).

INR se va calcula utilizând următoarea formulă:

INR = RP^{1st} sau după tabelul de calcul a INR, care este indicat în anexa fiecărui lot.

ISI- Indexul Internațional a sensibilității tromboplastinei, specific pentru fiecare lot.

RESTRICTII

- ✓ Pentru prevenirea rezultatelor false garantați raportul între sânge și anticoagulant 9:1.
- ✓ Probele nu trebuie să contacteze cu sticla.
- ✓ Pentru prevenirea pierderii factorilor V și VII nu incubați probele mai mult de 5 min la 37°C. Pierderea factorului V poate provoca mărirea TP.
- ✓ Nu se admite testarea plasmei ce conține coaguli, hemoliză exces de citrat de sodiu și preparată cu mai mult de 2 ore în urmă.
- ✓ TP poate fi mărit cu un șir de substanțe inclusiv corticosteroide, EDTA, contraceptive orale, asparaginază, clofibrat, eritromicină, etanol, tetraciclină și anticoagulante, astfel ca heparina și cumarina.
- ✓ Scurtarea TP este provocată de antihistamine, fenobarbital, cofeină și vitamina K.

Intervalul INR la tratarea cu anticoagulante orale

Indicații	INR	Protrombina după Quick, %
Profilaxia și tratarea trombozelor, TEIA, infarctului miocardic, protezele tisulare a valvelor cardiace	2,0-3,0	36-23
Bolnavii din grupa de risc major (tromboembolie secundară, valvule mecanice a inimii)	2,5-3,5	28 - 19

CONTROLUL CALITĂȚII

Pentru controlul mersului reacției și a procedurii de măsurare se recomandă utilizarea plasmei normale și patologice cu valori cunoscute (Control Plasma L1+ L2).

Se recomandă stabilirea sistemului intern de control în fiecare laborator.

BIBLIOGRAFIE

- B. П. Балуца, З. С. Баркаган, Е. Д. Гольдберг "Лабораторные методы исследования системы гемостаза", Томск, 1980 г.
- У.П. Иванов "Руководство по гемостазиологии", Минск, 1991 г.

Simboluri marcate pe ambalajul consumatorului EN 15223-1:2012

IVD	- destinat pentru diagnosticarea «in vitro»
REF	- numărul de catalog al produsului
Lot	- numărul seriei
	- data producerii
	- expiră la
	- numărul de teste
	- citiți instrucția înainte de utilizare
	intervalul temperaturii de păstrare a setului
	- denumirea producătorului setului

EC	REP	- reprezentant autorizat în UE: QARAD B.V., Flight Forum 40, 5657 DB, Eindhoven, The Netherlands
-----------	------------	--

