

ИНСТРУКЦИЯ

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

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест тромбиновое 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 тромбиновое 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 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 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-реагента. 6 мл концентрата растворителя для тромбин-реагента 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-реагент

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

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

Тромбин-реагент готов к проведению анализа через 15 минут после приготовления. Тромбин-реагент 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 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 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 реагента при условии хранения в укупоренном виде при температуре 2-8°C. Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укупоренном состоянии.

Стабильность приготовленных реагентов

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-реагент с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу опасности Б.

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на $\frac{3}{4}$, 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