УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО фирмы
«Технология-Стандарт»
_____ А.П. Момот
«30» сентября 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для определения тромбинового времени
(Тромбо-тест)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения тромбинового времени (Тромбо-тест) предназначен для определения тромбинового времени с целью выявления нарушений конечного этапа свертывания крови и контроля за гепаринотерапией при тромбозах, тромбоэмболиях и ДВС-синдромах различной этиологии.

Набор предназначен только для профессионального использования специалистами в области лабораторной диагностики: заведующими лабораториями, врачами КЛД, врачами-лаборантами, медицинскими лабораторными техниками (фельдшер-лаборант), лаборантами, медицинскими технологами.

Область применения набора: клиническая лабораторная диагностика, клиническая медицина.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Определяется время свертывания плазмы крови под действием тромбина стандартной активности.

Состав набора (варианты комплектации):

Комплектация № 1 (кат. № 609):

1. Тромбин (лиофильно высушенный, 6-8 ед. NIH во фл.) - 4 фл.

Комплектация № 2 (кат. № 151):

1. Тромбин (лиофильно высушенный, 6-8 ед. NIH во фл.) - 4 фл.
2. Плазма-калибратор (лиофильно высушенная), на 1 мл - 1 фл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Комплектация № 3 (кат. № 610):

1. Тромбин (лиофильно высушенный, 150 ед. NIH во фл.), на 5 мл - 2 фл.

2. Буфер трис-HCl (концентрированный 20:1 раствор, 1 М), 5 мл - 2 фл.

Комплектация № 4 (кат. № 742):

1. Тромбин (жидкий реагент, 3-4 ед. NIH/мл), 10 мл - во флаконе.

Комплектация № 5 (кат. № 323):

1. Тромбин (лиофильно высушенный, 150 ед. NIH во фл.), на 3 мл - во флаконе.

Комплектация № 6 (кат. № 017):

1. Тромбин (лиофильно высушенный, 500 ед. NIH во фл.), на 10 мл - во флаконе.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Коэффициент вариации результатов определения тромбинового времени – не более 10 %.

Допустимое отклонение тромбинового времени от аттестованного значения – не более 10 %.

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

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Набор реагентов используется только для применения in vitro.

Реагенты, входящие в состав набора, в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- коагулометр (при отсутствии коагулометра - секундомер, водяная баня на +37 °С, пробирки);
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,05-0,2 и 0,1-1,0 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 100 мл;
- пробирки;
- вода дистиллированная;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- буфер трис-HCl (кат. № 027, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- плазма-калибратор («Мультитех-калибратор» кат. № 773, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- контрольная плазма с нормальным диапазоном значений («Техноклот Н» кат. № 774, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- контрольная плазма с патологическим диапазоном значений («Техноклот П» кат. № 775, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 4 ч назад, а также замороженной плазмы крови. Для данного анализа не рекомендуется хранение образцов биологического материала при температуре +2... +8 °С в связи с возможностью холодовой активации факторов свертывания.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Разведение концентрированного буфера трис-HCl в комплектации № 3

Концентрированный буфер трис-HCl перенести из флакона в мерный цилиндр и общий объем довести дистиллированной водой до 100,0 мл. В результате получают рабочий раствор буфера трис-HCl. Второй флакон с буфером трис-HCl развести по мере необходимости.

1.2. Разведение тромбина в комплектациях № 1, № 2

В один из флаконов с тромбином внести необходимое количество дистиллированной воды (см. таблицу в паспорте к набору) и растворить содержимое в условиях комнатной температуры (+18... +25 °С) при легком покачивании до полного растворения реагента.

Свертывающая активность приготовленного таким образом раствора тромбина проверяется на плазме-калибраторе, входящей в состав набора, или плазме-калибраторе «Мультитех-калибратор» (кат. № 773, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно), а также свежей нормальной плазме.

Раствор тромбина не рекомендуется прогревать при температуре +37 °С и хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

1.3. Разведение тромбина в комплектации № 4

Тромбин в виде жидкого реагента в комплектации № 4 готов к использованию.

1.4. Разведение тромбина в комплектациях № 3, № 5, № 6

Во флакон с тромбином в комплектации № 3 внести 5,0 мл, в комплектации № 5 – 3,0 мл, а в комплектации № 6 – 10,0 мл физиологического (0,9 %) раствора хлорида натрия и растворить содержимое в условиях комнатной температуры (+18... +25 °С) при легком покачивании до полного растворения реагента. В результате получают маточный раствор тромбина.

Для приготовления рабочего раствора тромбина смешать в пробирке один объём маточного раствора тромбина с указанным в паспорте к набору объёмом рабочего раствора буфера трис-HCl 0,05 М, pH 7,4 (кат. № 027, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно). Полученный рабочий раствор тромбина при добавлении к плазме-калибратору (см. Проведение анализа) должен иметь активность 14-18 с. В случае необходимости к раствору добавить небольшое количество буфера трис-HCl или маточного раствора тромбина для получения требуемой активности последнего. Рабочий раствор тромбина для сохранения активности рекомендуется готовить в пластиковой пробирке, не прогревать при температуре +37 °С и хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 2 ч. Разведение ма-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

точного раствора тромбина физиологическим (0,9 %) раствором натрия хлорида не рекомендуется ввиду снижения активности фермента.

1.5. Подготовка плазмы-калибратора для комплектации № 2

Во флакон с плазмой-калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое в условиях комнатной температуры (+18... +25 °С) при легком покачивании до полного растворения реагента. Разведенную плазму-калибратор перед исследованием выдержать не менее 25-30 мин при комнатной температуре (+18... +25 °С). Использовать для контроля свертывающей активности тромбина.

1.6. Получение плазмы-калибратора для комплектаций № 1, № 3, № 4, № 5 и № 6

Плазма-калибратор в состав набора в комплектациях № 1, № 3, № 4, № 5 и № 6 не входит.

Для контроля свертывающей активности тромбина пригоден один из двух, представленных ниже вариантов:

Вариант 1: Во флакон с «Мультитех-калибратором» (кат. № 773) внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое в условиях комнатной температуры (+18... +25 °С) при легком покачивании до полного растворения реагента. Разведенную плазму-калибратор перед исследованием выдержать 25-30 мин при комнатной температуре.

Вариант 2: Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. выше раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равных пропорциях.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

2.1. Определение тромбинового времени на полуавтоматическом коагулометре или мануально

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл плазмы-калибратора или анализируемого образца плазмы крови пациента, либо в пробирку – 0,2 мл при мануальном определении.

2. Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.

3. Добавить в кювету коагулометра 0,1 мл раствора тромбина, имеющего комнатную температуру (+18... +25 °С), либо в пробирку 0,2 мл (при мануальном определении) и начать отсчет времени свертывания до образования фибринового сгустка (при мануальном определении – при периодическом покачивании пробирки).

Объем смешиваемых реагентов и плазмы может отличаться для разных моделей коагулометров.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2.2. Определение тромбинового времени на автоматическом коагулометре

Коагулометр в автоматическом режиме смешивает плазму-калибратор или анализируемый образец плазмы крови пациента с раствором тромбина, после чего регистрирует время свертывания.

Описание и настройки представлены в инструкции производителя автоматического коагулометра.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Тромбиновое время свертывания выражают в секундах. Результат определения этого показателя в плазме-калибраторе зависит от выбранной активности тромбина. В большинстве случаев целесообразно использовать раствор тромбина, активность которого в плазме-калибраторе составляет **14-18** с. В паспорте к набору реагентов представлен вариант разведения для получения необходимой активности тромбина.

Диапазон нормальных значений метода значимо зависит от способа регистрации коагуляции, а также от локальных особенностей выполнения преаналитического этапа исследования, поэтому в каждой лаборатории должны быть приняты собственные референтные интервалы. При обследовании больных с патологией системы гемостаза нередко встречается удлинение тромбинового времени, что может быть обусловлено следующими причинами: присутствие в крови антикоагулянтов (гепарин, дабигатран и др.); образование и накопление в кровотоке продуктов деградации фибриногена/фибрина; гипо- или афибриногенемия; дисфибриногенемия. Несвертываемость плазмы под влиянием тромбина наблюдается после внутривенного введения терапевтических доз гепарина, а также (часто) при заборе крови из венозного катетера.

4. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества рекомендуется использовать контрольную плазму с нормальным диапазоном значений «Техноклот Н» (кат. № 774), а также контрольную плазму с патологическим диапазоном значений «Техноклот П» (кат. № 775).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения тромбинового времени (Тромбо-тест), в зависимости от техники выполнения и комплектации, предназначен для выполнения от 50 до 2000 определений (см. таблицу 1).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 1

Максимальное число определений тромбинового времени при разном расходе реагентов и используемой комплектации

Расход тромбина на одно определение	Количество определений в разных вариантах комплектаций набора					
	№ 1*	№ 2*	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
0,1 мл	200	200	1600	100	800	2000
0,2 мл	100	100	800	50	400	1000

Примечание: * - при разведении тромбина на 5,0 мл.

Набор реагентов для определения тромбинового времени (Тромбо-тест) необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора: в комплектациях № 1, № 2 и № 4 – **18 месяцев**; в комплектациях № 3, № 5 и № 6 – **24 месяца** в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +30 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, а также однократное замораживание.

Таблица 2

Условия хранения после вскрытия флаконов и приготовления реагентов

Температурный режим	Продолжительность хранения			
	Маточный раствор тромбина	Рабочий раствор тромбина	Жидкий тромбина	Плазма-калибратор
+37 °С	-	-	-	-
+18... +30 °С	-	Не более 7 суток	Не более 10 суток	Не более 3 часов
+2... +8 °С	Не более 30 суток	Не более 10 суток	Не более 35 суток	-
- 20 °С	Замораживание не допускается	Замораживание не допускается	-	Замораживание не допускается

Не следует смешивать реагенты из наборов разных серий.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ОТХОДОВ

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию медицинского изделия следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Медицинское изделие, не подлежащее использованию, а также с истекшим сроком годности относится к медицинским отходам класса А (СанПиН 2.1.3684-21), не содержащим потенциально опасные материалы и вещества (эпидемиологически безопасные отходы).

Все использованные одноразовые расходные материалы, образующиеся при работе с изделием, содержащие образцы плазмы крови пациентов, необходимо подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»), как потенциально инфицированные медицинские отходы класса Б (СанПиН 2.1.3684-21). Сбор, временное хранение и вывоз таких отходов следует выполнять в соответствии со схемой обращения с медицинскими отходами, принятой в организации, осуществляющей медицинскую деятельность.

Реагенты, входящие в состав набора, не являются горючими и взрывоопасными. Сильное нагревание вторичной упаковки (коробки и блистера) может приводить к их возгоранию.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МАРКИРОВКА ИЗДЕЛИЯ

На флаконах и упаковке изделия нанесены следующие символы:

IVD Медицинское изделие для диагностики *in vitro*

SN Серийный номер

8°C 2°C Температурный диапазон

Использовать до …

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов для определения тромбинового времени (Тромбо-тест), следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. https://www.tehnologia-standart.ru, htpp://технология-стандарт.рф.

Версия инструкции 1.0.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru