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

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для определения активности антитромбина в плазме крови
(ХромоТех-Антитромбин)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения активности антитромбина в плазме крови (ХромоТех-Антитромбин) предназначен для определения активности (в процентах от нормы) физиологического антикоагулянта антитромбина (АТ). Определение АТ используют для диагностики ДВС-синдрома и гематогенных тромбофилий, контроля за лечением этих состояний с использованием гепарина и препаратов крови, а также для оценки функции антикоагулянтной системы при различных заболеваниях (болезни печени, акушерская патология, онкогематологические заболевания, тяжелая травма и др.).

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. АТ разведенной исследуемой плазмы в присутствии гепарина быстро инактивирует тромбин. Остаточную активность тромбина определяют по скорости гидролиза хромогенного субстрата фотометрически. Регистрируют изменение оптической плотности (поглощения) на фотометре при длине волны 405 нм после остановки гидролиза хромогенного субстрата добавлением уксусной кислоты (двухточечный метод).

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

$$\begin{array}{l} \text{АТ}_{\text{(образец)}} \\ + \\ \text{Тромбин}_{\text{(избыток)}} \end{array} \xrightarrow[\text{гепарин}]{} \begin{array}{l} \text{АТ-тромбин} \\ + \\ \text{Тромбин}_{\text{(остаток)}} \end{array}$$

$$\text{Хромогенный субстрат} \xrightarrow{\text{Тромбин}_{\text{(остаток)}}} \begin{array}{l} \text{Хромогенный субстрат-OH} \\ + \\ \text{pNA} \end{array}$$

Состав набора:

1. Хромогенный субстрат (лиофильно высушенный), на 7,5 мл - 2 фл.
2. Тромбин (лиофильно высушенный, 500 ед. NIH), на 10 мл - 1 фл.
3. Буфер трис-HCl с гепарином, 3,5 мл - 1 фл.
4. Плазма-калибратор (лиофильно высушенная), на 1 мл - 2 фл.
5. Растворитель для тромбина, 10 мл - 3 фл.
6. Кювета (на 1 мл) - 1 шт.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Чувствительность – не более 5 %.

Линейность определения активности антитромбина - в диапазоне от 10 до 130 %, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Тест на «открытие» – не более 10 % отклонения.

Коэффициент вариации результатов определения активности антитромбина – не более 10 %.

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

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.

Набор не содержат антитела к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg.

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

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

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».

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- Фотометр с длиной волны 405 нм;
- центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- дозаторы пипеточные вместимостью 50 мкл, 0,5 и 1,0-10,0 мл;
- пробирки;
- вода дистиллированная;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- уксусная кислота, 30 % раствор;
- контрольная плазма с нормальным диапазоном значений («Тех-контроль Н», кат. № 776, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- контрольная плазма с патологическим диапазоном значений («Тех-контроль П», кат. № 777, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- буфер трис-HCl с гепарином (При необходимости. Объем буфера трис-HCl с гепарином в составе набора рассчитан на проведение до 60 определений. Для проведения большего числа определений – до 300 (см. п. 2 «Проведение анализа») необходима дополнительная поставка 2-4 флаконов данного реагента, кат. № 343, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- плазма-калибратор («Мультитех-калибратор», кат. № 773, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно при необходимости);
- 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 тече-

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

ние 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. Допускается замораживание образцов при -16... -20 °С на срок до 1 мес.

Приготовление разведенной исследуемой плазмы. Перед проведением анализа 0,05 мл исследуемой плазмы в пробирке смешать с 3,0 мл физиологического (0,9 %) раствора натрия хлорида и 0,05 мл буфера трис-HCl с гепарином.

Приготовление Бланк-разведения: в пробирке к 0,05 мл буфера трис-HCl с гепарином добавить 3,05 мл физиологического (0,9 %) раствора натрия хлорида.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Разведение хромогенного субстрата

Во флакон с хромогенным субстратом внести 7,5 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и периодическом покачивании до полного растворения реагента. В результате получают раствор хромогенного субстрата, который перед использованием должен быть выдержан при комнатной температуре не менее 15 мин.

1.2. Разведение тромбина

Во флакон с тромбином внести 10,0 мл физиологического (0,9 %) раствора натрия хлорида и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и периодическом покачивании до полного растворения реагента. В результате получают маточный раствор тромбина, который перед использованием должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 30-40 мин.

Разведение рабочего раствора тромбина: к 0,1 мл маточного раствора тромбина добавить указанный в паспорте к набору объём растворителя для тромбина.

1.3. Разведение плазмы-калибратора

Во флакон с плазмой-калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и периодическом покачивании до полного растворения реагента. Перед использованием плазма-калибратор должна быть выдержана при комнатной температуре не менее 15 мин.

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

Разведенную плазму-калибратор разлить по 0,1 мл в 9-10 герметично закрывающихся пластиковых пробирок и заморозить при температуре -16... -20 °С.

Разведенную или размороженную при температуре +37 °С плазму-калибратор (в объеме 50 мкл) использовать для получения калибровочных показателей поглощения в день проведения исследования. Перед проведением анализа 0,05 мл плазмы-калибратора в пробирке смешать с 3,0 мл физиологического (0,9 %) раствора натрия хлорида и 0,05 мл буфера трис-HCl с гепарином.

Активность антитромбина в плазме-калибраторе указана в паспорте к набору реагентов.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

	Исследуемый образец плазмы	**Калибровочные значения активности тромбина (КЗАТ)**
Дозатором внести в пробирку:		
Бланк-разведение	-	0, 25 мл
Разведенную исследуемую плазму или разведенную плазму-калибратор	0,25 мл	-
Рабочий раствор тромбина	0,25 мл	0,25 мл
Перемешать и инкубировать при температуре +37 °С в течение 3 мин.		
Добавить хромогенный субстрат	0,25 мл	0,25 мл
Через 120 секунд внести 30 % раствор уксусной кислоты, перемешать	0,5 мл	0,5 мл
Через 5-10 мин после внесения раствора уксусной кислоты определить поглощение (А) при длине волны 405 нм исследуемого образца плазмы против физиологического (0,9 %) раствора натрия хлорида.		

В день проведения исследования анализы плазмы-калибратора и контроля (бланка) выполняются однократно вне зависимости от количества образцов исследуемой плазмы.

Описание хода определения дано для работы на фотометрах, где кювета (с величиной оптического пути 1 см) имеет вместимость 1,0-1,5 мл. В этом случае набор «ХромоТех-Антитромбин» рассчитан на 60 определений. При работе с фотометрами, объем кюветы которых 0,5-0,7 мл, возможно выполнение с данным набором реагентов до 120 определений. При этом объем смешиваемых образцов и реагентов следует уменьшить в 2 раза.

При проведении анализа в микрокюветах (общий объем смешиваемых реагентов - 0,20-0,25 мл), расход каждого из реагентов кратно уменьшается в 10 раз, соответственно число определений увеличивается до 300.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты анализа выражают в процентах к норме. Активность АТ вычисляют по форму-

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

лам:

$$АТ, (\%) = (А_{КЗАТ} - А_{образца}) \times ФП;$$

$$ФП, \% = \frac{АТ\ _{плазмы\text{-}калибратора}\ (\%)}{А_{КЗАТ} - А\ _{плазмы\text{-}калибратора}},$$

где: $А_{КЗАТ}$ - поглощение (оптическая плотность) в пробе с калибровочным значением активности тромбина; $А_{образца}$ - поглощение (оптическая плотность) в исследуемом образце плазмы больного; $ФП$ – фактор пересчета; $АТ_{плазмы\text{-}калибратора}$ $(\%)$ - известная активность АТ в образце плазмы-калибратора (см. паспорт к набору); $А_{плазмы\text{-}калибратора}$ - поглощение (оптическая плотность) в образце плазмы-калибратора.

В нормальной плазме активность антитромбина составляет **75-140 %.**

4. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества рекомендуется использовать контрольную плазму с нормальным диапазоном значений «Тех-контроль Н» (кат. № 776), а также контрольную плазму с патологическим диапазоном значений «Тех-контроль П» (кат. № 777).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения активности антитромбина в плазме крови (ХромоТех-Антитромбин) рассчитан на проведение 60-300 определений (число анализов зависит от объема кюветы).

Набор реагентов для определения активности антитромбина в плазме крови (ХромоТех-Антитромбин) необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора – **18 месяцев** 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

Условия хранения после вскрытия флаконов и приготовления реагентов

Температурный режим	Продолжительность хранения				
	Раствор хромогенного субстрата	Маточный раствор тромбина	Рабочий раствор тромбина	Плазма-калибратор	Раствор буфера трис-HCl с гепари-

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

					ном
+37 °С	-	-	-	-	-
+18... +30 °С	Не более 5 суток	-	Не более 8 часов	Не более 3 часов	-
+2... +8 °С	Не более 15 суток	Не более 30 суток	Не более 1 суток	-	Не более 30 суток
- 20 °С	-	-	-	Однократное замораживание до 15 суток	-

Не следует смешивать реагенты из наборов разных серий.

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.

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

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.

МАРКИРОВКА ИЗДЕЛИЯ

На флаконах и упаковке изделия нанесены следующие символы:

IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*	SN	Серийный номер
	Температурный диапазон		Использовать до …

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов для определения активности антитромбина в плазме крови (ХромоТех-Антитромбин), 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