



Тромбо-тест

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для
определения тромбинового времени
(на 50-100 опр.)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для определения тромбинового времени при диагностике нарушений конечного этапа свертывания.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Заключается в определении времени свертывания плазмы крови под влиянием тромбина стандартной активности.

Состав набора:

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

Контрольная плазма в состав набора данной комплектации не входит. Для получения контрольных значений тромбинового времени свертывания следует использовать пул бедной тромбоцитами плазмы, полученной от 3-5 практически здоровых людей. Также может быть использована коммерческая контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю (например, РНП-плазма, производства ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 012 и 717).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность определения тромбинового времени - в диапазоне от 11 до 120 с.

Коэффициент вариации результатов определения тромбинового времени не превышает 10 %.

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр (при отсутствии коагулометра - секундомер, пробирки стеклянные, термобаня на +37 °С);
- пипетки вместимостью 0,1, 0,2 и 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 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

Каталожный номер набора: **609**

ООО фирма "Технология-Стандарт"

656037, Барнаул, а/я 1351, тел./факс (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39, 27-13-00

после взятия крови, а отбор плазмы на исследование – сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

Внимание! При обследовании больных, получающих гепарин, рекомендуется предварительно очистить плазму от антикоагулянта (см. реагент "Гепасорб-1", производства ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 024).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Разведение тромбина

В один из флаконов с тромбином внести необходимое количество дистиллированной воды (см. таблицу в Паспорте к набору) и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 2-3 мин.

Свертывающая активность приготовленного таким образом раствора тромбина проверяется на контрольной плазме.

1.2. Получение контрольной плазмы

Вариант 1: Бедная тромбоцитами плазма, полученная по описанному методу (см. выше раздел «Приготовление анализируемых образцов») от 3-5 практически здоровых доноров, смешивается в равной пропорции.

Вариант 2: Может быть также использована коммерческая контрольная нормальная плазма, аттестованная по данному показателю (например, РНП-плазма, производства ООО фирмы "Технология-Стандарт", кат. № 012 и 717).

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

2.1. Контроль на свертывающую активность

Коагулометрический вариант:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл контрольной плазмы и прогреть ее при +37 °С в течение 1 мин.

2. В ту же кювету добавить 0,1 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и зарегистрировать время свертывания (см. также Инструкцию к коагулометру).

Мануальный вариант:

1. Контрольную плазму (0,2 мл), взятую в пробирку, прогреть в течение 1 мин при +37 °С.

2. В ту же пробирку добавить 0,2 мл раствора тромбина (имеющего температуру +18... +25 °С) и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

2.2. Исследование плазмы больного

Выполняется аналогично контролю на свертывающую активность, но контрольная плазма заменяется на плазму обследуемого больного.

ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результат выражают в секундах, сравнивают время свертывания контрольной и исследуемой плазмы. Как правило, используют раствор тромбина, активность которого в контрольной плазме составляет **14-17 с** (тромбиновое время свертывания). Укорочение этого времени чаще всего свидетельствует о гиперфибриногенемии. С другой стороны, при обследовании больных с патологией системы гемостаза нередко встречается удлинение тромбинового времени, что может быть обусловлено следующими причинами: присутствие в крови быстродействующих антикоагулянтов (гепарин и др.); образование и накопление в кровотоке продуктов деградации фибриногена/фибрина, обладающих антитромбиновой активностью; гипофибриногенемия; дисфибриногенемия.

Полная несвертываемость плазмы под влиянием тромбина наблюдается после внутривенного введения терапевтических доз (5000-10000 ед.) гепарина.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Набор рассчитан на проведение не менее **50-100 анализов** при расходе раствора тромбина по 0,1-0,2 мл на 1 определение. Число анализов зависит от используемого разведения тромбина.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут. Замораживание не допускается.

Раствор тромбина можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 2 ч или не более 6 ч - при температуре +2... +8 °С.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 1999. - 224 с.

2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. - СПб.: Формат, 2006. - 208 с.