

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения тромбинового времени
«МЛТ-ТРОМБИН»

1. Назначение

Набор предназначен для определения тромбинового времени (далее ТВ). ТВ используется для выявления патологии полимеризации фибрина. Тест необходимо выполнять в случаях, когда неизвестна причина удлинения протромбинового времени и АЧТВ. В этом случае нормальное ТВ может свидетельствовать о дефиците факторов X, или V, наличии волчаночного антикоагулянта, а удлиненное о:

- ✓ значительном снижении уровня фибриногена (<0,5 г/л);
- ✓ повышении уровня продуктов деградации фибриногена (при синдроме ДВС, или проведении тромболитической терапии);
- ✓ присутствии аномальных форм фибриногена (врожденная дисфибриногемия).

Полная несвертываемость плазмы под влиянием тромбина может наблюдаться после внутривенного введения терапевтических доз гепарина.

2. Принцип действия набора

Принцип метода заключается в определении времени свертывания цитратной плазмы, активированного добавлением стандартного количества тромбина.

3. Состав набора

1. Тромбин-реагент – лиофильно высушенный тромбин из крови быка с активностью 6 МЕ/мл – 10 флаконов. Набор рассчитан на проведение 200 анализов при определении вручную и на коагулометрах с рабочим объемом кюветы 300 мкл, или 400 анализов при определении на коагулометрах с рабочим объемом кюветы 150 мкл.

4. Аналитические характеристики

1. ТВ нормальной плазмы составляет – 10-13 сек.
2. Коэффициент вариации результатов определения ТВ не превышает – 10%.
3. Допустимый разброс результатов определения ТВ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает – 10%.

5. Меры предосторожности

Компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны. При работе с плазмой следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы человеческой крови могут содержать возбудителей вирусных инфекций.

6. Оборудование и материалы

1. коагулометр;
2. пипетки для дозирования 50 мкл (или 100 мкл, если рабочий объем кюветы составляет 300 мкл) и 2 мл (для растворения реактива);
3. пробирки пластиковые (если требуется длительное хранение плазмы);
4. перчатки резиновые хирургические;
5. вода дистиллированная;
6. физиологический раствор (0,9% раствор NaCl);
7. центрифуга лабораторная.

7. Подготовка анализируемых образцов

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 0,11 М раствор натрия лимоннокислого 3-х замещенного (3,2% раствор 2-водной

соли, или 3,8% 5,5-водной соли). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000 об/мин (1200-1500 г) в течение 10 мин для получения бедной тромбоцитами плазмы. Если анализ откладывается на более чем на 2 часа, то плазму необходимо перенести в другую пробирку, которая может храниться в течение рабочего дня при комнатной температуре, или в течение 1 месяца при -20°C. Замороженные образцы плазмы необходимо размораживать в термостате при +37°C в течение 10 мин, затем аккуратно перемешать.

Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки!

8. Подготовка компонентов набора

1. Подготовка рабочего раствора тромбина.

К содержимому флакона добавить **2,0** мл дистиллированной воды, аккуратно растворить вращением или покачиванием флакона (**не встряхивать !**), и выдержать при комнатной температуре (+18-+25°C) в течение 30 мин.

9. Проведение анализа

Для коагулометров АПГ2-02, АПГ2-02П, АПГ4-02П:

<i>Внести в кювету</i>	<i>Объем</i>
Плазма исследуемая (или контрольная)	50 мкл
Физиологический раствор NaCl (0,9% раствор NaCl)	50 мкл
Инкубировать при +37 °С – 60 сек	
Тромбин-реагент	50 мкл
Зафиксировать время свертывания в секундах	

Для коагулометров с рабочим объемом кюветы 0,3 мл или ручных методов:

<i>Внести в кювету(пробирку)</i>	<i>Объем</i>
Плазма исследуемая (или контрольная)	100 мкл
Физиологический раствор	100 мкл
Инкубировать при +37 °С – 60 сек	
Тромбин-реагент	100 мкл
Зафиксировать время свертывания в секундах	

10. Результаты анализа

Результат выражают в секундах, сравнивают время свертывания контрольной и исследуемой плазмы.

В норме тромбиновое время (ТВ) составляет 10-13 сек.

11. Условия хранения и эксплуатации

Срок годности – 12 месяцев.

Хранить набор необходимо при +2-+8°C. Допускается хранение при комнатной температуре в течение 5 суток. После растворения рабочий раствор тромбина стабилен в течение рабочего дня при температуре +18-+25°C или в течение 2-х суток при температуре +2-+8°C. При необходимости допускается замораживание на 1 месяц. Если реактив используется для выполнения одиночных анализов, то его целесообразно разлить на аликвоты по 0,5 мл в пластиковые пробирки типа «Эппендорф» и хранить при температуре -30°C. Стабильность замороженного реактива не менее 1 месяца.