

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* Набор реагентов для определения тромбинового времени (**Тромбин-реагент**) по ТУ 9398-012-05595541-2007

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Набор реагентов для определения тромбинового времени (Тромбин-реагент) по ТУ 9398-012-05595541-2007 (сокращенное наименование Тромбин-реагент) предназначено для определения тромбинового времени – скринингового интегрального теста для мониторинга гепаринотерапии, антикоагулянтной и фибринолитической терапии, а также для выявления:

- диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС);
- продуктов деградации фибриногена/фибрин;
- наследственной или приобретенной количественной и качественной недостаточности фибриногена.

Предназначенный пользователь. Определение тромбинового времени с помощью набора Тромбин-реагент может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Диагностическая роль. 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 и применении прямых ингибиторов тромбина (например, дабигатрана); наличии ингибиторов полимеризации фибрина (парапротеинов, продуктов деградации фибрина/фибриногена и др.); тромболитической терапии (например, при применении урокиназы, стрептокиназы).

Область применения. Область применения набора – клиническая медицина, клиническая лабораторная диагностика, лабораторная диагностика нарушений гемостаза.

НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ ТЕСТА

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.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

Тромбин-реагент лиофильно высушенный - 9 флаконов;
Растворитель для тромбин-реагента, концентрат, 6,0 мл/флакон - 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 ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

Результаты определения тромбинового времени могут зависеть от назначаемых препаратов. Препараты дабигатрана, дифенина, гепарина, гирудина и других прямых ингибиторов тромбина повышают тромбиновое время. 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.

Следующие вещества не влияют на правильность определения тромбинового времени: билирубин в концентрации до 0,2 г/л, свободный гемоглобин – до 5 г/л, триглицериды – до 5 г/л.

Точность

Тромбиновое время в контрольной нормальной плазме при активности тромбина 3 МЕ/мл должно быть в пределах 14 – 20 с, при активности 6 МЕ/мл - в пределах 9 – 12 с, а при активности 9 МЕ/мл - в пределах 7 – 9 с. Диапазоны времени свертывания контрольной плазмы конкретного набора Тромбин-реагент с активностью 3, 6 и 9 МЕ/мл указаны в паспорте на набор.

Чувствительность Тромбина к гепарину

Все рабочие растворы тромбин-реагента чувствительны к присутствию гепарина в исследуемой плазме, для мониторинга за введением гепарина рекомендуется использовать тромбин с активностью 9 МЕ/мл.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения тромбинового времени не превышает 10%. Допустимый разброс результатов при измерении тромбинового времени разными наборами одной серии не превышает 10%

Значения времени свертывания, соответствующие нормальным.

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 - 14–20 сек;

Ограничения метода

Клиническая диагностика не должна основываться только на результатах определения тромбинового времени набором Тромбин-реагент. При постановке диагноза должны быть рассмотрены клинические симптомы и другая значимая тестовая информация.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов Тромбин-реагент предназначен только для диагностики *in vitro*. Класс потенциального риска применения набора –2а. Набор реагентов Тромбин-реагент не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду и не представляет рисков, связанных с возможностью взрыва и возгорания.

При работе с набором и образцами крови следует соблюдать правила, описанные в следующих документах: СанПиН 2.1.3. 2630-10 от 30.09.2010

«Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»; СП 3.1.5. 2826 от 11.01.2011 «Профилактика ВИЧ-инфекции».

☞ Тромбин-реагент получен из плазмы крови человека, карантинизированной и проверенной на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg. Тем не менее, не следует исключать остаточного минимального риска при работе с набором, поскольку плазма крови человека является потенциально опасным биологическим материалом.

При работе следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирусы гепатита В и гепатита С или любой 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.

*Примечание – набор Тромбин-тест совместим со всеми типами анализаторов, предназначенных для коагулологических исследований параметров гемостаза.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов Тромбин-реагент предназначен для определения тромбинового времени в плазме крови человека.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

Процедура получения анализируемого 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 от плюс 18 до плюс 25°C в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 г).

Условия хранения анализируемого биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 ч при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C и не более 8 ч при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18°C и хранение при этой температуре не более 2 мес.

Ограничения по использованию анализируемого 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.

Плазму, содержащую нефракционированный гепарин, следует центрифугировать не позднее, чем через один час после получения крови, хранить при комнатной температуре и анализировать не позднее, чем через 4 часа.

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.

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 плюс 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

Внести в кювету анализатора	Объем, мкл
Плазма исследуемая (Плазма 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.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты измерения тромбинового времени пациента должны включаться в отчет как «ТВ в секундах». Эти результаты должны соотноситься с нормальным диапазоном значений тромбинового времени, принятым в лаборатории для данного реагента, который также должен быть включен в отчет. Значения тромбинового времени контрольной плазмы никогда не должны использоваться в качестве нормального диапазона.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения тромбинового времени следует контролировать с помощью реагента «Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009» производства МБООИ «Общество больных гемофилией», номер по каталогу KM-1.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок годности набора – 24 месяца. Не использовать набор после истечения срока годности!

Набор стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается хранение при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание наборов не допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат! Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно закупоренном состоянии.

Стабильность приготовленных реагентов

Приготовленный раствор растворителя Тромбин-реагент следует хранить при температуре от плюс 2 до плюс 8°C не более 1 месяца.

Приготовленные растворы тромбина следует хранить:

Активность МЕ/мл	от плюс 2 до плюс 8°C	от плюс 18 до плюс 22°C	от минус 18 до минус 20°C
9	3 суток	1 сутки	1 месяц
6	3 суток	1 сутки	1 месяц
3	3 суток	1 сутки	1 месяц

Транспортирование наборов должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание наборов не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора Тромбин-реагент требованиям Технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.







МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» отходы от работы с набором Тромбин-тест с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу Б.

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на три четверти, завязывают, маркируют надписью: «Отходы. Класс Б», наносят бирку название организации, дату и ФИО исполнителя и помещают на участок временного хранения до вывоза транспортом специального подразделения к месту обеззараживания и утилизации.

Вывоз отходов класса Б для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Б осуществляется в соответствии с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к порядку накопления, транспортирования, обезвреживания и захоронения токсичных промышленных отходов.

СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

Символ	Наименование символа
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Биологический риск
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель

Дата утверждения инструкции 20 декабря 2007г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушенной гемостаза. М., «НьюДиамед», 2001.- 285 с.
2. Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Простакова Т.М., Мелкумян А.Л., Суворов А.В. Скрининговые тесты плазменного гемостаза. Методы исследования. М. 2016.- 70 с.
3. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000.- 360 с.

ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

- ГОСТ Р 51088-2013. Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.
- ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
- ГОСТ Р ИСО18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация. Предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
- ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
- ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.
- ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции.
- ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия.
- ГОСТ Р ЕН 13612-2010 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ЕН 13641-2010 Устранение или снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro.
- Приказ Минздрава России от 19.01.2017 г №11н «Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинских изделий».

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 (804)333-22-61, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru, сайт www.renam.ru