



Інструкція
з використання набору реагентів
для визначення антитромбіну в плазмі крові
ХРОМО-АНТИТРОМБІН

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Набір розрахований на 60-300 визначень при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Принцип методу

АТ III розведеної досліджуваної плазми в присутності гепарину швидко інактивує тромбін. Залишкова активність тромбіну визначається за швидкістю гідролізу хромогенного субстрату фотометричним методом. Реєструють зміну оптичної щільності (поглинання) на фотометрі при довжині хвилі 405 nm (nm) після додавання оцтової кислоти (метод по двом точкам).

Призначення

Набір Хромо-Антитромбін призначений для визначення концентрації (у відсотках від норми) фізіологічного антикоагулянту антитромбіну III (АТ III). Визначення АТ III використовують для діагностики ДВЗ-синдрому і гематогенних тромбофілій, контролю за лікуванням цих станів з використанням гепарину і препаратів крові.

Склад набору

1. Хромогенний субстрат (ліофільно висушений), 9 mg (мг) - 2 фл.
2. Тромбін (ліофільно висушений), 500 од. НІН - 1 фл.
3. Буфер трис-НСІ з гепарином, 3.5 ml (мл) - 1 фл.

Примітка: обсяг буфера в складі набору розрахований на проведення до 60 визначень. Для проведення більшої кількості визначень (до 300) необхідна додаткова поставка 2-4 флаконів даного реагенту.

4. Контрольна плазма з відомим вмістом АТ III (ліофільно висушена), на 1 ml (мл) - 2 фл.
5. Розчинник для тромбіну, 10 ml (мл) - 3 фл.
6. Кювета зі зменшеною місткістю (на 1 ml (мл)), що дозволяє скоротити витрату реагентів при визначенні на фотометрах з об'ємом кювети більше 2 ml (мл) - 1 шт.
7. Інструкція з використання.
8. Паспорт.

Аналітичні характеристики

Лінійність визначення кількості АТ III - 10-150%. Коефіцієнт варіації результатів визначення кількості АТ III не перевищує 10%. Допустимий розкид результатів визначення концентрації АТ III в одній пробі плазми крові різними наборами однієї серії не перевищує 10%.

Перелік необхідного устаткування

- центрифуга лабораторна;
- фізіологічний (0.15 M) розчин хлориду натрію;
- оцтова кислота, 30% розчин;
- фотометр з термостатом чи біохімічний напівавтомат з довжиною хвилі - 405 nm (nm) при ширині оптичного шляху кювети не менше 1 cm (см);
- секундомір;
- піпетки місткістю 0.05, 0.5 і 1.0-10.0 ml (мл);
- пробірки;

Підготовка зразків

Кров для дослідження забирають з ліктьової вени в пластикову пробірку, що містить 3.2% розчин натрію лимоннокислого трьох заміщеного (цитрат натрію). Співвідношення обсягів крові і цитрату натрію - 9:1. Кров центрифугують при 3000-4000 г/min (об/хв) (1200g) протягом 15 min (хв). В результаті отримують бідну тромбоцитами плазму, яку переносять в іншу пробірку, де зберігають до проведення дослідження. Центрифугування має проводитися безпосередньо після взяття крові, а відбір плазми на дослідження - відразу ж після центрифугування. Не допускається аналіз плазми крові, що має згустки і отриманої більше 2 h (год) тому. Допускається заморожування зразків при -20 ° C на термін до

1 mth (міс).

Приготування розведеної досліджуваної плазми. Перед проведенням аналізу 0.05 ml (мл) досліджуваної плазми в пробірці змішати з 3.0 ml (мл) фізіологічного розчину хлориду натрію і 0.05 ml (мл) буфера трис-НСІ з гепарином.

Приготування Бланк-розведення: до 0.05 ml (мл) буфера трис-НСІ з гепарином додати 3.05 ml (мл) фізіологічного розчину хлориду натрію.

Підготовка реагентів

1. Розведення хромогенного субстрату

У флакон з хромогенним субстратом (далі по тексті - субстратом) внести 7.5 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при температурі 37°C і періодичному погойдуванні протягом 30 min (хв).

В результаті отримують розчин субстрату.

2. Розведення тромбіну

У флакон з тромбіном додати 10 ml (мл) фізіологічного розчину хлориду натрію і розчинити вміст при кімнатній температурі 18-25°C і легкому погойдуванні протягом 2 min (хв). В результаті отримують маточний розчин тромбіну, який перед використанням повинен бути витриманий при кімнатній температурі протягом 30-40 min (хв).

Розведення робочого розчину тромбіну:

до 0.1 ml (мл) маточного розчину тромбіну додати 1.6 ml (мл) розчинника для тромбіну.

3. Розведення контрольної плазми

У флакон з контрольною плазмою внести 1.0 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі і легкому погойдуванні протягом 3 min (хв). Контрольну плазму розлити по 0.1 ml (мл) в 9-10 герметичних скляних (силіконованих) або пластикових флаконів і заморозити при температурі -20°C. Порцію свіжої або розмороженої (на водяній бані при температурі 37°C) контрольної плазми (в об'ємі 50 µl (мкл)) використовувати для отримання контрольних показників поглинання в день проведення дослідження. Концентрація АТ ІІІ в контрольній плазмі вказана в Паспорті до набору реагентів.

Проведення аналізу

	Досліджуваний зразок плазми	Контрольні значення активності тромбіна
Піпеткою внести в пробірку:		
Бланк-розведення	-	0.25 ml (мл)
Розведену контрольну плазму	0.25 ml (мл)	-
Робочий розчин тромбіну	0.25 ml (мл)	0.25 ml (мл)
Змішати та інкубувати при температурі 37°C протягом 3 min (хв)		
Додати хромогенний субстрат	0.25 ml (мл)	0.25 ml (мл)
Через 120 s (с) внести 30% розчин оцтової кислоти та змішати	0.5 ml (мл)	0.5 ml (мл)
Через 5-10 min (хв) після внесення розчину оцтової кислоти визначити поглинання (А) при довжині хвилі 405 nm (нм) досліджуваного зразка плазми проти фізіологічного розчину хлориду натрію.		

В день проведення дослідження аналізу контрольної плазми і контролю (бланка) виконуються одноразово незалежно від кількості зразків досліджуваної плазми. Опис ходу визначення дано для роботи на спектрофотометрах і фотометрах, де кювета (з величиною оптичного шляху 1 cm (см)) має місткість 1.0-1.5 ml (мл). В цьому випадку набір Хромо-Антитромбін розрахований на 60 визначень. При роботі з фотометрами, обсяг кювети яких 0.5-0.7 ml (мл), можливе виконання з даним набором реагентів до 120 визначень. При цьому обсяг зразків і реагентів, що змішуються слід зменшити в 2 рази. При проведенні аналізу в мікрокюветах (загальний обсяг реагентів, змішуються – 0.20-0.25 ml (мл)), витрата кожного з реагентів кратно зменшується в 10 разів, відповідно число визначень збільшується до 300.

Оцінка результатів

Результати аналізу виражають у відсотках до норми. Концентрацію АТ ІІІ обчислюють за формулами:

$$AT\ III, (\%) = (A_{\text{зат}} - A_{\text{зразка}}) \times \Phi П$$

$$\Phi П, \% = \frac{AT\ III_{\text{контрольної плазми}} (\%)}{A_{\text{зат}} - A_{\text{контрольної плазми}}}$$

де: АКЗАТ - поглинання (оптична щільність) в пробі з контрольним значенням активності тромбіну; зразка – поглинання (оптична щільність) в досліджуваному зразку плазми хворого; ФП – фактор перерахунку; АТ ІІІ контрольної плазми (%) – відомий вміст АТ ІІІ в контрольному зразку плазми; А контрольної плазми – поглинання (оптична щільність) в контрольному зразку плазми.

У нормальній плазмі концентрація АТ ІІІ становить 75-140%.

Зберігання та стабільність

Набір розрахований на проведення 60-300 визначень. Зберігання набору повинно проводитися при температурі 2-8°C протягом усього терміну придатності набору 18 mth (міс). Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів. Заморожування не допускається.

Час використання набору не повинен перевищувати 1 mth (міс) з моменту розкриття його компонентів. Розчин хромогенного субстрату можна зберігати при кімнатній температурі 18-25°C не більше 5 d (доб) або при температурі 2-8°C - не більше 2 wk (тижд). Маточний розчин тромбіну можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 1 mth (міс) або не більше 3 mth (міс) в замороженому стані при температурі -20°C.

Робочий розчин тромбіну можна зберігати при кімнатній температурі не більше 3 h (год), і температурі 2-8°C - не більше 1 d (доб). Не заморожувати.

Розведену контрольну плазму можна зберігати при кімнатній температурі не більше 3 h (год) або не більше 2 wk (тижд) в замороженому стані при температурі -20°C. Розкриті флакони буфера трис-НСІ з гепарином і розчинником для тромбіну можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 1 mth (міс).

Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.


Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37°C не більше 72 h (год).

Гарантії виробника








1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 18 mth (міс) з дня виготовлення набору.

Література

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушенной гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Баркаган З.С., Момот А.П., Мамаев А.Н., Макаров В.А., Воюшина Т.Л., Неведрова О.А., Шилова А.Н., Зяблицкая Н.К. Новый метод определения антитромбина ІІІ и его диагностическое значение // Клиническая лабораторная диагностика. - № 7. – 2004. - С.18-21.

 ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14,
тел/факс: (057) 752-32-31, електронна адреса: granumlab@gmail.com

Символи на продукції

 Виробник	Виготовлено: Дата виробництва	Придатно до: Термін придатності	Серія: Номер	
серії  Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання	 Берегти від сонячного світла	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Температурне обмеження
 Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів				