

# Thrombin Time



REF 5377  
REF 5392  
REF 5392H



Helena Biosciences Europe, Queensway South, Team Valley Trading Estate, Gateshead, Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom  
Tel: +44 (0)191 482 8440  
Fax: +44 (0)191 482 8442  
Email: info@helena-biosciences.com  
Web: www.helena-biosciences.com

HL-2-0444P 2016/01 (12)

## Thrombin Time

Instructions for use

en

### INTENDED PURPOSE

The Thrombin Time kit is intended for carrying out clot based haemostasis assays.

The Thrombin Time reagent contains bovine thrombin. The reagent can be used manually or on semi-automated and automated instruments. The test is commonly applied to detect various sources of interference with normal blood coagulation. Prolongation of the thrombin clotting time can be taken as a qualitative indication of abnormal fibrinogen levels (high or low), or the presence of interfering substances such as Fibrin Degradation Products (FDPs) or heparin. Quantitative evaluation of the possible causes of prolonged thrombin clotting time should be performed as follow-up studies, such as aPTT or chromogenic assay for heparin, Clauss fibrinogen, FDP determinations, heparin neutralisation by protamine sulphate or polybrene<sup>1</sup>, normal plasma mixing studies<sup>2</sup> or reptilase assay<sup>3</sup> to distinguish between hypofibrinogenaemia and FDP effects.

### WARNINGS AND PRECAUTIONS

The reagents contained in this kit are for *in vitro* diagnostic use only – DO NOT INGEST. Wear appropriate personal protective equipment when handling all kit components. Refer to the product safety declaration for the link to appropriate hazard and precautionary statements where applicable. Dispose of components in accordance with local regulations.

### COMPOSITION

Composition	Content	Description	Preparation
Thrombin Time	10 x 1 mL (REF 5392H)	Each vial contains a lyophilised preparation of bovine thrombin with buffers and stabilisers. The reconstituted reagent contains ≤10 NIH units/mL of thrombin. The reagent should be a white lyophilised plug.	Reconstitute the reagent with the recommended volume of purified water: 1 mL - REF 5392H 2 mL - REF 5392 5 mL - REF 5377
	10 x 2 mL (REF 5392)		Allow to stand for 5 minutes then mix gently by inversion and transfer to a plastic tube. Reconstituted reagent should be a clear, colourless solution.
	10 x 5 mL (REF 5377)		

Each kit contains Instructions For Use.

### ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Any high quality, mechanical, opto-mechanical or photo-optical coagulation instrument capable of performing thrombin clotting time testing may be used.

### STORAGE, SHELF-LIFE AND STABILITY

Unopened reagents are stable until the given expiry date when stored under conditions indicated on the vial or kit label.

Thrombin Time Reconstituted reagent should be stored at  $^{\circ}2$ – $^{\circ}8$ C and is stable for 14 days or at  $-20$ C for 1 month.  
Reconstituted reagent can also be stored on-board a Sysmex CA1500 photo-optical instrument for up to 7 days.

### SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Plastic or siliconised glass should be used throughout. Blood (9 parts) should be collected into 3.2% or 3.8% sodium citrate anticoagulant (1 part). Separate plasma after centrifugation at 1500 x g for 15 minutes. Plasma should be kept at  $^{\circ}2$ – $^{\circ}8$ C or  $^{+18}$ – $^{+24}$ C. Testing should be completed within 4 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at  $-20$ C for 2 weeks or  $-70$ C for 6 months. Thaw quickly at  $^{\circ}37$ C prior to testing. Do not keep at  $^{\circ}37$ C for more than 5 minutes<sup>4</sup>.

### PROCEDURE

- Collect and prepare the blood sample according to the directions outlined in "Sample Collection And Preparation".
- Reconstitute the control plasma according to the package insert provided with each control.
- Prepare the reagent for use in the procedure according to the reconstitution instructions in the "Composition" section.
- Perform all tests in duplicate. Calculate the mean clotting time of the duplicate determinations to the nearest 0.1 seconds. Individual values should be within  $\pm 5\%$  of the mean value.

#### Manual Method

- Pipette 0.2 mL of the patient plasma or control plasma into a reaction tube.
- Incubate at  $^{\circ}37$ C for 3 minutes.
- Pipette 0.1 mL of Thrombin Time into the reaction tube containing patient or control plasma whilst simultaneously starting a timer.
- Record the time taken for clot formation to the nearest 0.1 second.

#### Automated Method

Refer to the appropriate instrument operator manual for detailed instructions or contact Helena Biosciences Europe for instrument specific application notes.

### INTERPRETATION OF RESULTS

The results of the Thrombin Time test should be reported to the nearest 0.1 seconds. The normal range (usually the mean  $\pm 2$  standard deviations) should be established by each laboratory. Results outside the normal range should be considered abnormal and follow-up testing performed.

### LIMITATIONS

Expected values for the Thrombin Time test will vary from one laboratory to another depending on the techniques used. The method of clot detection, temperature, pH, collection technique, type of anticoagulant and time and method of sample storage are all very important. Plasma sample collection and storage conditions should be standardised and carefully controlled. Unexpected results should be confirmed by additional testing.

As well as the cause of elongated thrombin times indicated, a report has suggested that many systemic amyloidosis patients with bleeding complications may have a circulating inhibitor which prolongs the Thrombin Time<sup>5</sup>. Also, therapeutic levels of heparin may entirely abolish clotting in the Thrombin Time test, although neutralisation with protamine sulphate or polybrene should correct the Thrombin Time<sup>6</sup>.

### QUALITY CONTROL

Each laboratory should establish a quality control program. Normal and abnormal control plasmas should be tested prior to each batch of patient samples, to ensure satisfactory instrument and operator performance. If controls do not perform as expected, patient results should be considered invalid. Helena Biosciences Europe supplies the following controls available for use with this product:

REF 5186 Routine Control N  
REF 5187 Routine Control A  
REF 5183 Routine Control SA

### REFERENCE VALUES

Reference values can vary between laboratories depending on the techniques and systems in use. For this reason each laboratory should establish its own reference ranges.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The following performance characteristics have been determined by Helena Biosciences Europe or their representatives:

#### Reproducibility

Sample	n	Intra-assay precision		Inter-assay precision	
		Clot formation (seconds)	CV (%)	Clot formation (seconds)	CV (%)
Normal	10	12.5	1.43	12.5	1.29

### BIBLIOGRAPHY

- Laposata *et al.* The Clinical Haemostasis Handbook, Yearbook Medical Publishers Inc., p219, 1989
- Thompson AR and Harker LA. Manual of Haemostasis and Thrombosis. 3rd Ed., F.A. Davis Co., p62, 1983
- DeMott WR. Laboratory Test Handbook, 2nd Ed., Jacobs D.S. et al Eds., Lexi-Comp Inc., p432-433, 1990
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Gastineau DA *et al.* (1991) Inhibitor of the Thrombin Time in Systemic Amyloidosis: A Common Coagulation Abnormality, *Blood*, 77:2637-40

## Thrombin Time

Fiche technique

fr

### UTILISATION

Le kit Thrombin Time est destiné à la réalisation des analyses de l'hémostase basées sur la formation de caillots.

Le réactif Thrombin Time contient de la thrombine bovine. Il est possible d'utiliser le réactif avec une méthode manuelle ou avec des instruments automatisés ou semi-automatisés. Il s'agit d'un test couramment réalisé pour détecter diverses sources d'interférence avec la coagulation sanguine normale. Un allongement du Thrombin Time constitue une indication qualitative de taux de fibrinogène anormaux (élévé ou faible) ou de la présence de substances interférantes comme les produits de dégradation de la fibrine (PDF) ou l'héparine. Il est nécessaire de réaliser une évaluation quantitative des causes potentielles de cet allongement en réalisant d'autres analyses: TCA ou dosage chromogénique pour l'héparine, méthode de Clauss pour le fibrinogène, déterminations des PDF, neutralisation de l'héparine par du sulfate de protamine ou du Polybrene<sup>1</sup>, études de mélanges avec du plasma normal<sup>2</sup> ou détermination du temps de reptilase<sup>3</sup> pour différencier une hypofibrinogénémie des effets des PDF.

### AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Les réactifs du kit sont à usage diagnostique *in vitro* uniquement – NE PAS INGRÉRER. Porter un équipement de protection individuelle approprié lors de la manipulation de tous les composants du kit. Consulter la fiche de données de sécurité du produit pour obtenir le lien vers les phrases de risque et les conseils de prudence le cas échéant. Éliminer les composants conformément aux réglementations locales.

### COMPOSITION

Composant	Contenu	Description	Préparation
Thrombin Time	10 x 1 mL (REF 5392H)	Chaque flacon contient une préparation lyophilisée de thrombine bovine additionnée de tampons et de stabilisateurs. Le réactif reconstruit contient ≤10 NIH units/mL de thrombine. Il se présente sous la forme d'un lyophilisat blanc.	Reconstituer le réactif en ajoutant le volume indiqué d'eau distillée: 1 mL - REF 5392H 2 mL - REF 5392 5 mL - REF 5377
	10 x 2 mL (REF 5392)		Laisser reposer 5 minutes puis mélanger doucement par inversion et transférer dans un tube en plastique. Le réactif reconstruit est une solution transparente et incolore.
	10 x 5 mL (REF 5377)		

Chaque kit contient une fiche technique.

### MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

Il est possible d'utiliser un instrument de coagulation mécanique opto-mécanique ou photo-optique de haute qualité servant à déterminer le Thrombin Time.

### CONSERVATION, DURÉE DE VIE UTILE ET STABILITÉ

Les flacons de réactif non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée s'ils sont conservés dans les conditions indiquées sur l'étiquette du kit ou du flacon.

Thrombin Time Une fois reconstruit, le réactif doit être conservé à une température située entre  $^{\circ}2$ – $^{\circ}8$ C pour rester stable pendant 14 jours, ou à  $-20$ C pour rester stable pendant 1 mois. Le réactif reconstruit peut également être conservé pendant un maximum de 7 jours à bord d'un instrument photo-optique Sysmex CA1500.

### PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Utiliser tout au long du prélevement du plastique ou du verre siliconé. Mélanger 9 volumes de sang et 1 volume de citrate de sodium à 3,2% ou 3,8%. Séparer le plasma après centrifugation à 1500 x g pendant 15 minutes. Conserver le plasma entre  $^{\circ}2$ – $^{\circ}8$ C ou  $^{+18}$ – $^{+24}$ C. L'analyse doit être terminée dans les 4 heures suivant le prélevement de l'échantillon; sinon, il est possible de congeler le plasma 2 semaines à  $-20$ C ou 6 mois à  $-70$ C. Décongeler rapidement à  $^{\circ}37$ C avant de réaliser l'analyse. Ne pas laisser à  $^{\circ}37$ C plus de 5 minutes<sup>4</sup>.

### PROCÉDURE

- Prélever et préparer l'échantillon de sang conformément aux instructions du paragraphe "Prélèvements des échantillons".
- Reconstituer le plasma de contrôle en suivant les instructions de la notice fournie avec chaque contrôle.
- Préparer le réactif à utiliser dans la procédure en suivant les instructions de reconstitution du paragraphe "Composition".
- Réaliser toutes les analyses en double. Calculer le temps moyen de coagulation des déterminations en arrondissant au dixième de seconde. Les valeurs individuelles doivent se situer dans une plage  $\pm 5\%$  de la valeur moyenne.

#### Méthode Manuelle

- Pipette 0,2 mL de plasma patient ou contrôle dans un tube à essai.
- Incuber 3 minutes à  $^{\circ}37$ C.
- Pipette 0,1 mL de réactif Thrombin Time dans le tube à essai contenant le plasma patient ou contrôle et démarrer à ce moment un chronomètre.
- Relever le temps de formation du caillot en arrondissant au dixième de seconde.

#### Méthodes Automatisées

Consulter le manuel d'utilisation de l'instrument approprié pour obtenir des instructions détaillées ou contacter Helena Biosciences Europe pour obtenir des notes d'application spécifiques à l'instrument.

### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats du Thrombin Time doivent être indiqués en arrondissant au dixième de seconde. La plage normale (en général, écarts-types moyens  $\pm 2$ ) doit être déterminée par chaque laboratoire. Les résultats se situant hors de la plage normale doivent être considérés comme anormaux et il est nécessaire de réaliser des analyses plus approfondies.

### LIMITES

Les valeurs prévues du Thrombin Time varient d'un laboratoire à l'autre suivant la technique utilisée. La méthode de détection du caillot, la température, le pH, la technique de prélevement, le type d'anticoagulant et la durée et le mode de conservation de l'échantillon sont des paramètres très importants. Les conditions de prélevement et de conservation de l'échantillon de plasma doivent être standardisées et soigneusement contrôlées. Tout résultat hors plage doit être confirmé par un test supplémentaire.

Mis à part les causes de l'allongement du Thrombin Time indiquées, une étude a suggéré que de nombreux patients souffrant d'une amylose systémique avec des complications hémorragiques ont un inhibiteur circulant qui prolonge le Thrombin Time<sup>5</sup>. En outre, un taux thérapeutique d'héparine risque d'annuler complètement la coagulation dans le test de détermination du Thrombin Time, même si une neutralisation avec du sulfate de protamine ou du Polybrene doit corriger le Thrombin Time<sup>6</sup>.

### CONTROLE QUALITÉ

Chaque laboratoire doit établir un programme de contrôle qualité. Les plasmas de contrôle, normaux et anormaux, doivent être testés avant chaque lot d'échantillons patients afin de s'assurer que l'instrument et l'opérateur offrent des performances satisfaisantes. Si les contrôles ne donnent pas les résultats prévus, les résultats du patient doivent être considérés comme non valables.

Helena Biosciences Europe distribue les contrôles suivants à utiliser avec ce produit:

REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

### VALEURS DE RÉFÉRENCE

Les valeurs de référence peuvent varier d'un laboratoire à l'aut

## SCOPO PREVISTO

Il kit Thrombin Time è concepito per l'esecuzione di dosaggi di emostasi basati sulla presenza di coagulo.

Il reagente per la determinazione del Thrombin Time contiene trombina bovina. Questo reagente può essere utilizzato manualmente o con strumenti semiautomatici e automatici. Il test viene comunemente impiegato per rilevare varie fonti di interferenza con la normale coagulazione del sangue. Il prolungamento del Thrombin Time può essere considerato come indicazione qualitativa di livelli anormali di fibrinogeno (alti o bassi) oppure della presenza di sostanze interferenti come gli FDP o l'eparina. La valutazione quantitativa delle possibili cause di un Thrombin Time prolungato deve essere eseguita sotto forma di studi di follow-up, come il dosaggio dell'aPTT o il dosaggio cromogenico per l'eparina, il fibrinogeno con metodo Clauss, le determinazioni degli FDP, la neutralizzazione dell'eparina con protamina solfato o polibrene<sup>1</sup>, gli studi sulla miscelazione di plasma normale<sup>2</sup> o il dosaggio della reptilase<sup>3</sup>, per distinguere tra l'ipofibrinogenemia e gli effetti degli FDP.

## AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti contenuti in questo kit sono destinati esclusivamente alla diagnostica *in vitro* - NON INGERIRE. Indossare un'adeguata attrezzatura protettiva personale durante la manipolazione di tutti i componenti del kit. Per conoscere i relativi simboli precauzionali e di pericolo, laddove pertinente, fare riferimento alla dichiarazione di sicurezza del prodotto. Smaltire i componenti conformemente alle normative locali vigenti.

## COMPOSIZIONE

Componente	Contiene	Descrizione	Preparazione
Thrombin Time	10 x 1 mL (REF 5392H) 10 x 2 mL (REF 5392) 10 x 5 mL (REF 5377)	Ogni flacone contiene una preparazione ioflizzata di trombina bovina con tamponi e stabilizzatori. Il reagente ricostituito contiene ≤10 NIH unità/mL di trombina. Il reagente deve apparire sotto forma di tappo ioflizzato di colore bianco.	Ricostituire il reagente con il volume raccomandato di acqua distillata: 1 mL - REF 5392H 2 mL - REF 5392 5 mL - REF 5377
		Lasciare riposare per 5 minuti, quindi miscelare delicatamente per inversione e trasferire in una provetta in plastica. Il reagente ricostituito deve apparire sotto forma di soluzione incolore trasparente.	
		Ogni kit contiene un foglio procedurale.	

## MATERIALI NECESSARI, MA NON IN DOTAZIONE

È possibile utilizzare qualsiasi strumento di coagulazione meccanico, opto-mecanico o foto-ottico di alta qualità in grado di eseguire il test del Thrombin Time.

## CONSERVAZIONE, VITA UTILE E STABILITÀ

I reagenti non aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata se conservati nelle condizioni riportate sul flacone o sull'etichetta del kit.

Thrombin Time Il reagente ricostituito va conservato ad una temperatura di \*2-+8°C e resta stabile per 14 giorni oppure a -20°C per 1 mese.  
Il reagente ricostituito può essere inoltre conservato all'interno di uno strumento foto-ottico Sysmex CA1500 per max. 7 giorni.

## RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Nel corso dell'intera procedura è necessario utilizzare plastica o vetro siliconizzato. Il sangue (9 parti) deve essere raccolto in sodio clorato al 3,2% o al 3,8% come anticoagulante (1 parte). Separare il plasma in seguito a centrifugazione a 1500 x g per 15 minuti. Il plasma deve essere conservato a +2-+8°C o +18-+24°C. I test devono essere completati entro 4 ore dalla raccolta dei campioni; in alternativa, il plasma può essere conservato congelato a -20°C per 2 settimane o a -70°C per 6 mesi. Decongelare rapidamente a +37°C prima di eseguire i test. Non conservare a +37°C per oltre 5 minuti\*.

## PROCEDURA

- Raccogliere e preparare il campione di sangue conformemente alle istruzioni riportate nel paragrafo "Raccolta dei campioni e preparazione".
- Ricostituire il plasma di controllo seguendo le indicazioni fornite nell'inserto contenuto nella confezione di ciascun controllo.
- Preparare il reagente da utilizzare nella procedura conformemente alle istruzioni di ricostituzione riportate nel paragrafo "Composizione".
- Eseguire tutti i test per 2 volte. Calcolare il tempo di coagulazione medio per le ripetizioni dei test con un'approssimazione a 0,1 secondi. I singoli valori devono rientrare in una tolleranza di ±5% rispetto al valore medio.

## Metodo Manuale

- Pipettare 0,2 mL di plasma del paziente o di plasma di controllo in una provetta di reazione.
- Incubare a +37°C per 3 minuti.
- Pipettare 0,1 mL di reagente per la determinazione del Thrombin Time nella provetta di reazione contenente il plasma del paziente o il plasma di controllo, azionando contemporaneamente un timer.
- Registrare il tempo di formazione del coagulo con un'approssimazione a 0,1 secondi.

## Metodo Automatico

Fare riferimento al manuale utente dello strumento appropriato per istruzioni dettagliate oppure contattare Helena Biosciences Europe per le note applicative specifiche dello strumento.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati relativi al test del Thrombin Time devono essere indicati con un'approssimazione a 0,1 secondi. Il range normale (solitamente pari alla media ± 2 deviazioni standard) deve essere stabilito da ogni singolo laboratorio. I risultati che fuoriescono dal range normale devono essere considerati come anomali; si raccomanda pertanto di eseguire test di follow-up.

## LIMITAZIONI

I valori previsti per il test del Thrombin Time possono variare da un laboratorio all'altro in funzione della tecnica utilizzata. Il metodo di rilevamento del coagulo, la temperatura, il pH, la tecnica di raccolta, il tipo di anticoagulante, il tempo e il metodo di conservazione dei campioni sono elementi di estrema importanza. La raccolta dei campioni di plasma e le condizioni di conservazione devono essere standardizzate e controllate con particolare attenzione. I risultati imprevisti devono essere confermati eseguendo ulteriori test.

Oltre alla causa dei tempi di trombina prolungati indicata, secondo un rapporto molti pazienti affetti da amiloidosi sistematica con complicanze eremorragiche possono presentare un inibitore circolante, che prolunga il Thrombin Time<sup>5</sup>. Inoltre, i livelli terapeutici di epatina possono eliminare completamente la coagulazione nel test del Thrombin Time, sebbene la neutralizzazione con protamina solfato o polibrene dovrebbe correggere il Thrombin Time<sup>6</sup>.

## CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plasmi di controllo normali e anormali devono essere testati prima di ogni lotto di campioni di pazienti, per garantire un livello prestazionale soddisfacente sia per quanto riguarda lo strumento che per l'operatore. Qualora i controlli non funzionassero come previsto, i risultati relativi ai pazienti dovranno essere considerati non validi.

Helena Biosciences Europe mette a disposizione i seguenti controlli utilizzabili con questo prodotto:

REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

## VALORI DI RIFERIMENTO

Per la sicurezza del paziente, è necessario che il sistema sia monitorato continuamente da un operatore qualificato. Per tale motivo ciascun laboratorio dovrà elaborare i propri range di riferimento.

## CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le seguenti caratteristiche prestazionali sono state determinate da Helena Biosciences Europe o dai propri rappresentanti:

## Precisione

Campione	n	Precisione intra-dosaggio		Precisione tra i dosaggi	
		Formazione del coagulo (secondi)	CV (%)	Formazione del coagulo (secondi)	CV (%)
Normali	10	12,5	1,43	12,5	1,29

## BIBLIOGRAFIA

- Lapostata et al. The Clinical Haemostasis Handbook, Yearbook Medical Publishers Inc., p219, 1989
- Thompson AR and Harker LA. Manual of Haemostasis and Thrombosis. 3rd Ed., F.A. Davis Co., p62, 1983
- DeMott WR. Laboratory Test Handbook, 2nd Ed., Jacobs D.S. et al Eds., Lexi-Comp Inc., p432-433, 1990.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Gastineau DA et al. (1991) Inhibitor of the Thrombin Time in Systemic Amyloidosis: A Common Coagulation Abnormality, *Blood*, 77:2637-40

## USO PREVISTO

El uso previsto del kit Thrombin Time es realizar ensayos de hemostasia basados en la coagulación.

El reactivo de Thrombin Time contiene trombina bovina. El reactivo puede usarse manualmente o en instrumentos semi-automatizados o automatizados. La prueba se aplica con frecuencia para detectar diversas interferencias con la coagulación sanguínea normal. La prolongación del Thrombin Time puede tomarse como una indicación cualitativa de niveles anormales de fibrinógeno (altos o bajos) o la presencia de sustancias que interfieren como los PDF o la heparina. La evaluación cuantitativa de las posibles causas de Thrombin Time prolongado debe realizarse como estudios de seguimiento, como el TTpa o la valoración cromogénica de la heparina, el fibrinógeno de Clauss, las determinaciones de los PDF, la neutralización de la heparina por sulfato de protamina o polibreno<sup>1</sup>, los estudios de mezcla de plasma normal<sup>2</sup> o el ensayo de la reptilasa<sup>3</sup> para distinguir entre la hipofibrinogenemia y los efectos de los PDFs.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos que contiene este kit son sólo para uso de diagnóstico *in vitro*: NO INGERIR. Lleve el equipo de protección personal adecuado cuando utilice todos los componentes del kit. Consulte la declaración de seguridad del producto para saber más sobre las indicaciones adecuadas de advertencia y riesgo. Desechar los componentes de conformidad con las normativas locales.

## COMPOSICIÓN

Componente	Contiene	Descripción	Preparación
Thrombin Time	10 x 1 mL (REF 5392H) 10 x 2 mL (REF 5392) 10 x 5 mL (REF 5377)	Ogni flacone contiene una preparazione ioflizzata di trombina bovina con tamponi e stabilizzatori. Il reagente ricostituito contiene ≤10 NIH unità/mL di trombina. Il reagente deve apparire sotto forma di tappo ioflizzato di colore bianco.	Ricostituire il reagente con il volume raccomandato di acqua distillata: 1 mL - REF 5392H 2 mL - REF 5392 5 mL - REF 5377
		Lasciare riposare per 5 minuti, quindi miscelare delicatamente per inversione e trasferire in una provetta in plastica. Il reagente ricostituito deve apparire sotto forma di soluzione incolore trasparente.	
		Cada kit contiene instrucciones de uso.	

## ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Puede usarse cualquier instrumento de coagulación mecánico opto-mecánico o foto-óptico capaz de realizar pruebas de Thrombin Time.

## ALMACENAMIENTO, CADUCIDAD Y ESTABILIDAD

Los reactivos no abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada cuando se conservan en las condiciones indicadas en el vial o en la etiqueta del kit

Thrombin Time El reactivo reconstituido debe almacenarse a +2-+8°C y se mantiene estable durante 14 días o a -20°C durante 1 mes.  
El reactivo reconstituido también puede almacenarse en un instrumento fotoóptico Sysmex CA1500 durante un máximo de 7 días.

## RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Debe usarse siempre plástico o vidrio siliconizado. Debe recogerse sangre (9 partes) en el anticoagulante citrato sódico al 3,2% o al 3,8% (1 parte). Separar el plasma después de la centrifugación a 1500 x g durante 15 minutos. El plasma debe conservarse a +2-+8°C o +18-+24°C. Las pruebas deberían terminarse en 4 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20°C durante 2 semanas o -70°C durante 6 meses. Descongelar rápidamente a +37°C durante más de 5 minutos\*.

## PROCEDIMIENTO

- Recoja y prepare la muestra de sangre de acuerdo con las instrucciones esbozadas en "Recogida y preparación de muestras".
- Reconstituya el plasma control de acuerdo con el prospecto incluido con cada control.
- Prepare el reactivo para su uso en el procedimiento de acuerdo con las instrucciones de reconstitución en la sección "Composición".
- Realice todas las pruebas por duplicado. Calcule el tiempo de coagulación medio de las determinaciones duplicadas hasta una exactitud de 0,1 segundos. Los valores individuales deben estar dentro de ±5% del valor medio.

## Método Manual

- Pipete 0,2 mL del plasma del paciente o del plasma control en un tubo de reacción.
- Incubar a +37°C durante 3 minutos.
- Pipete 0,1 mL de reactivo de Thrombin Time en el tubo de reacción que contiene plasma del paciente o control mientras se pone en marcha simultáneamente un temporizador.
- Registrar el tiempo hasta la formación del coágulo procurando afinar en la décima de segundo más próxima.

## Método Automatizado

Consulte el manual del usuario del instrumento adecuado para instrucciones detalladas o póngase en contacto con Helena Biosciences Europe para notas de aplicación específicas del instrumento.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados de la prueba de Thrombin Time deben comunicarse en los 0,1 segundos más próximos. Cada laboratorio debe establecer el intervalo normal (habitualmente, la media ±2 desviaciones estándar). Los resultados fuera del intervalo normal deben considerarse anormales y deben realizarse pruebas de seguimiento.

## LIMITACIONES

Los valores esperados para la prueba del Thrombin Time variarán de un laboratorio a otro dependiendo de la técnica usada. El método de detección de los coágulos, la temperatura, el pH, la técnica de recogida, el tipo de anticoagulante y el tiempo y el método de almacenamiento de la muestra son todos muy importantes. Las condiciones de recogida y conservación de las muestras de plasma deben estandarizarse y controlarse cuidadosamente. Los resultados inesperados deben confirmarse mediante pruebas adicionales.

Además de la causa de alargamiento de los Tiempos de Coagulación de la trombina indicada, un informe ha sugerido que muchos pacientes con amiloidosis sistémica con complicaciones de sangrado pueden tener un inhibidor circulante que prolonga el Thrombin Time<sup>5</sup>. Además, los niveles terapéuticos de heparina pueden abolir por completo la coagulación en la prueba del Thrombin Time, aunque la neutralización con sulfato de protamina o polibreno debe corregir el Thrombin Time<sup>6</sup>.

## CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad. Los controles normales y anormales deben estudiarse antes de cada lote de muestras del paciente, para asegurar un funcionamiento adecuado del instrumento y el operador. Si los controles no se realizan como se espera, los resultados del paciente deben considerarse inválidos.

Helena Biosciences Europe suministra los siguientes controles disponibles para usar con este producto:

REF 5186	Routine Control N

<tbl\_r cells="2