

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для определения анти Ха активности гепарина коагулологическим методом (Реаклот-гепарин) по ТУ 9398-024-05595541-2011»

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для определения анти Ха активности гепарина коагулологическим методом по ТУ 9398-024-05595541-2011» (сокращенное наименование Реаклот-гепарин) предназначено для мониторинга за введением гепарина (в том числе низкомолекулярного), путем определения его анти Ха активности в плазме крови.

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

Предназначенный пользователь. Определение активности гепарина с помощью набора Реаклот-гепарин может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Диагностическая роль. Мониторинг за введением гепарина позволяет в первую очередь не допустить геморрагических осложнений и в тоже время оценить эффективность антикоагулянтной терапии.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

Субстратная плазма, лиофильно высушенная – 2 мл/флакон – 2 шт;
Реагент 1 - фактор Ха и фосфолипиды, лиофильно высушенный – 2мл/флакон – 2 шт;
Кальция хлорида 0.035M раствор – 5 мл/флакон – 1 шт;
Плазмы-калибраторы – 1 мл/флакон – 3 шт;
Плазмы контрольные – 1 мл/флакон – 2 шт.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 40 анализов на полуавтоматических коагулометрах. Количество анализов на автоматических коагулометрах зависит от конструкции прибора.

Принцип метода

Метод основан на способности небольших количеств гепарина исследуемой плазмы в присутствии антитромбина III (АТIII) нейтрализовать экзогенный активированный фактор Ха.

Процесс происходит в два этапа:

1. инактивация избытка фактора Ха комплексом АТIII-гепарин.
 2. измерение коагулологической активности остаточного фактора Ха на фосфолипидной мембране в присутствии ионов кальция.
- Источником АТIII, фибриногена и фактора V служит субстратная плазма.

МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КАЛИБРАТОРАМ И КОНТРОЛЬНЫМ МАТЕРИАЛАМ

Активность гепарина в плазмах-калибраторах и контрольных плазмах устанавливаются при аттестации каждой серии против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против Третьего Международного Стандарта низкомолекулярного гепарина, код 11/176, полученного из National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Значение активности гепарина в плазмах-калибраторах и в контрольных плазмах указано в паспорте медицинского изделия.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения активности гепарина: билирубин в концентрации не более 0,2 г/л; свободный гемоглобин - не более 2,0 г/л; триглицериды - не более 10,0 г/л. При превышении указанных концентраций возможно получение ложных результатов.

Чувствительность

Набор Реаклот-гепарин позволяет определять не более 0,05 антиХа ед/мл активности гепарина.

Воспроизводимость

Активность гепарина в плазмах-калибраторах составляет:

уровень 0 – 0 антиХа ед/мл;
уровень 1 – 0,4 - 0,6 антиХа ед/мл;
уровень 2 – 0,7 - 1,1 антиХа ед/мл.

Допустимое отклонение от аттестованного значения – не более 10%.

Коэффициент вариации результатов определения активности гепарина не превышает 10%. Допустимый разброс результатов при параллельном определении активности гепарина в одной пробе крови разными наборами одной серии не превышает 10%.

Диапазон определяемых значений активности

С помощью набора Реаклот-гепарин можно определить активность гепарина в диапазоне от 0 до 1,1 антиХа ед/мл.

Линейность определения в диапазоне определяемых концентраций
Отклонение от линейности в диапазоне активности гепарина от 0 до 1,1 антиХа ед/мл - не более 10%.

Значения активности, соответствующие нормальным

При введении гепарина в профилактических целях его активность в плазме должна составлять 0,1 – 0,3 антиХа ед/мл.

При введении гепарина в терапевтических целях его активность в плазме должна составлять 0,3 – 0,7 антиХа ед/мл.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов Реаклот-гепарин предназначен только для диагностики *in vitro*. Класс потенциального риска применения набора –2а.

Набор реагентов Реаклот-гепарин 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: «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность» (СанПиН 2.1.3. 2630-10 от 30.09.2010); Санитарно-эпидемиологические правила «Профилактика ВИЧ-инфекции» (СП 3.1.5. 2826 от 11.01.2011).

⚠ 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 другой возбудитель вирусной инфекции.

Плазмы-калибраторы, контрольные плазмы и Реагент фактора Ха получены из плазмы крови человека, карантинизированной и проверенной на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg. Тем не менее их следует рассматривать как потенциально вирус-опасные.

⚠ Реагент фактора Ха, входящий в набор, содержит консервант азид натрия, который может вступать в реакцию со свинцом и медью водопроводной системы с образованием потенциально взрывоопасных азидов металлов.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Автоматический или полуавтоматический коагулометр открытого типа;
- центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема от 20 до 200 мкл и от 200 до 1000 мкл;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% трехзамещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109M) или
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% трехзамещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- мерный цилиндр вместимостью 100 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов Реаклот-гепарин предназначен для определения активности гепарина в плазме крови. Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

Процедура получения 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 минут при 3000 об/мин (1200 g).

Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 2 часов при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C и не более 8 часов при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре от минус 18 до минус 20°C и хранение при этой температуре не более 2 месяцев.

Ограничения по использованию 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, так как при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная деградация белковых веществ.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Реагент 1 - фактор Ха и фосфолипиды.

Во флакон с лиофильно высушенным реагентом 1 внести 2 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

Субстратная плазма. Во флакон с лиофильно высушенной субстратной плазмой внести 2 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

Плазмы-калибраторы. Внести во флакон с плазмой-калибратором 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор плазмы нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20 минут.

Плазм контрольные. Внести во флакон с плазмой контрольной 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор плазмы нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20 минут.

Раствор кальция хлорида 0.035М. Реагент готов для использования.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Построение калибровочного графика.

Для построения калибровочного графика используют плазмы-калибраторы с известными активностями гепарина, указанными в паспорте медицинского изделия. На оси ординат (Y) по логарифмической шкале отложить величины времени свертывания, полученные для каждой плазмы-калибратора, а на оси абсцисс (X) по линейной шкале отложить активность гепарина в антиХа ед/мл плазмы. Правильность построения калибровочного графика проконтролировать с помощью контрольных плазм.

Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре.

Внести в кювету анализатора:	Объем
Субстратная плазма	100 мкл
Исследуемая плазма (Плазма-калибратор или контрольная плазма)	25 мкл
Инкубировать при 37 ⁰ С точно 1 минуту.	
Реагент 1	50 мкл
Инкубировать при 37 ⁰ С точно 2-3 минуты*.	
Раствор кальция хлорида 0.035М	50 мкл

*в зависимости от типа коагулологического анализатора.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При проведении исследования регистрируют время от момента добавления хлорида кальция до момента образования сгустка.

РАСЧЕТЫ

Используя калибровочный график и значение времени свертывания исследуемого образца определить активность гепарина.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Образцы исследуемой плазмы с высоким уровнем активности гепарина могут полностью нейтрализовать фактор Ха в системе, что приводит к искажению результатов. Поэтому точные значения активности гепарина для таких образцов могут быть получены при предварительном разведении исследуемой плазмы субстратной плазмой в 2 или 4 раза. При этом результат, считанный из калибровочного графика, должен быть умножен на 2 или 4 соответственно.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Правильность и воспроизводимость определения активности гепарина следует контролировать с помощью контрольных плазм, входящих в состав набора Реаклот-гепарин.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

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

Набор стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в закупоренном виде в холодильнике при температуре от плюс 2 до плюс 8⁰С. Допускается хранение при температуре до плюс 25⁰С 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.

Реагенты	+2-8 ⁰ С	+18-22 ⁰ С	-18-20 ⁰ С
Реагент 1	2 дня	1 день	1 мес.
Растворы плазм-калибраторов	8 час	4 час	1 мес.
Растворы контрольных плазм	8 час	4 час	1 мес.
Раствор субстратной плазмы	8 часов	8 часов	1 мес.

Раствор кальция хлорида после вскрытия флакона можно хранить при температуре от плюс 2 до плюс 8⁰С в закрытом состоянии до окончания срока годности, указанного на этикетке. Прогретый при 37⁰С раствор должен быть использован в течение 8 часов.

Транспортирование наборов должно осуществляться при температуре от плюс 2 до плюс 8⁰С в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов в соответствии с правилами перевозок, действующими на данном виде транспорта. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25⁰С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с набором «Реаклот-гепарин» 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 на бирку название организации, дату и ФИО исполнителя и помещают на участок временного хранения до вывоза транспортом специального подразделения к месту обеззараживания и утилизации.

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 наборы реагентов «Реаклот-гепарин», не подлежащие использованию, и наборы с истекшим сроком годности относятся к отходам класса Г. Сбор и временное хранение отходов класса Г осуществляется в маркированные емкости («Отходы. Класс Г»). Диагностические средства собираются в одноразовую маркированную упаковку любого цвета (кроме желтого и красного) в соответствии с требованиями нормативных документов в зависимости от класса опасности отходов. Вывоз отходов класса Г для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Г осуществляется в соответствии с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к порядку накопления, транспортирования, обезвреживания и захоронения токсичных промышленных отходов.

ЛИТЕРАТУРА

- Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.В., Мелкумян А.Л., Козлов А.А., Нешкова Е.А., Яровая Г.А. Методы определения активности гепарина: учебно-методическое пособие; М.: ГБОУ ДПО РМАПО, 2015, 64 с.
- Нарушения реакций образования тромбина: Под ред. Р.У. Колмена; М.: Медицина, 1988, 240 с.

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/факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru.