

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) (Коагуло-Экспресс) по ТУ 9398-014-05595541-2007»

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) (Коагуло-Экспресс) по ТУ 9398-014-05595541-2007» предназначено для определения АЧТВ в плазме крови на полуавтоматических и автоматических коагулометрах, способных регистрировать образование сгустка в присутствии каолина.

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

Предназначенный пользователь. Определение АЧТВ с помощью набора Коагуло-экспресс может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Диагностическая роль. Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) является одним из наиболее распространенных и чувствительных тестов для выявления широкого диапазона коагуляционных нарушений. АЧТВ изменяется в зависимости от различных количеств фибриногена, активности протромбина, факторов V, VIII, IX, X, XI, XII, других факторов контакта, присутствия специфических ингибиторов факторов свертывания VIII и IX. АЧТВ является широко применяемым методом контроля эффективности парентерального введения гепарина. При этом время свертывания увеличивается пропорционально уровню гепарина. У пациентов, принимающих пероральные антикоагулянты, снижаются уровни циркуляции факторов II, VII, IX и X, поэтому АЧТВ может увеличиваться. В присутствии неспецифических ингибиторов, например волчаночного антикоагулянта, АЧТВ может удлиниться.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

Коагуло - реагент, лиофильно высушенный - 2 мл/флакон – 8 штук,

Кальций хлористый 0,025 М раствор - 10 мл/флакон - 2 штуки.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 320 анализов плазмы крови при расходе по 50 мкл реагентов на один анализ.

Принцип метода

Инкубирование плазмы с оптимальным стандартизованным соотношением фосфолипидов и каолина активирует факторы внутреннего пути свертывания. Добавление в систему ионов кальция купирует цитрат плазмы и запускает реакцию свертывания, в процессе которой образуется фибриновый сгусток. При определении АЧТВ регистрируют время от момента добавления ионов кальция до момента образования сгустка.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения АЧТВ: билирубин в концентрации не более 0,2 г/л; свободный гемоглобин – не более 1 г/л; триглицериды – до 1,2 г/л. Уменьшение активности факторов внутреннего пути свертывания ниже 50% приводит к увеличению АЧТВ до патологических значений.

Результаты определения АЧТВ могут зависеть от назначаемых препаратов.

Эстрогены у мужчин и оральные контрацептивы у женщин снижают значения АЧТВ. Препараты дифенина, варфарина, гепарина, гирудина и других прямых ингибиторов тромбина могут повышать АЧТВ.

На результаты определения АЧТВ влияет выбор антикоагулянта и соблюдение точного соотношения антикоагулянт/кровь.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ в одной пробе плазмы одним набором не превышает 5%. Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 5%.

Значения, соответствующие нормальным*

Нормальный диапазон значений, полученный при определении АЧТВ у не менее 100 здоровых доноров набором Коагуло-экспресс, составляет 35 – 45 сек (точные значения указываются в паспорте на набор).

Удлинение теста указывает на:

- гипокоагуляцию;
- гемофилию А, В, или врожденную недостаточность фактора XI;
- дефицит факторов II, V, VIII, IX, XI, XII или фибриногена;
- болезнь фон Виллебранда;
- II и III фазы ДВС-синдрома;
- наличие ингибиторов свертывания (специфических или неспецифических);
- дефицит витамина К;
- тяжелая патология печени;

- лечение непрямыми антикоагулянтами;

- лечение прямыми антикоагулянтами.

Укорочение теста указывает на гиперкоагуляцию, склонность к тромбообразованию, на первую фазу ДВС-синдрома. Укорочение теста может быть связано с ошибками, допущенными при взятии крови и получении плазмы на стадии преаналитического этапа.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Набор реагентов Коагуло-экспресс 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.

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

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Коагулометр, способный регистрировать образование сгустка в присутствии каолина с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, вместимостью 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- 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.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов Коагуло - экспресс предназначен для определения АЧТВ в плазме человеческой 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 мин при 3000 об/мин (1200 g).

Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 ч при комнатной температуре и не более 8 ч 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.

Повторное замораживание образцов исследуемой плазмы не допускается, т.к. при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная денатурация белковых веществ.

Ограничения по использованию биологического материала

При скрининге пациентов на присутствие неспецифических ингибиторов свертывания (волчаночный антикоагулянт) тромбоциты или тромбоцитарные фрагменты в исследуемой плазме влияют на результаты анализа, маскируя нарушения коагуляционных тестов, вызванные присутствием волчаночного антикоагулянта. Для исследований необходимо использовать плазму крови, лишенную тромбоцитов, полученную двойным центрифугированием.

После первого центрифугирования плазму перенести в другую пробирку и повторно центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин. Немедленно после центрифугирования перенести верхний слой плазмы (не более половины объема) в пластиковую пробирку. Остаточное содержание тромбоцитов в плазме не должно превышать 1000/μл плазмы.

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

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Коагуло - реагент. Внести во флакон с реагентом 2 мл дистиллированной воды, растворить при покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 30 минут после растворения.

Кальций хлористый 0,025 М раствор. Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при 37°C. Повторное прогревание вскрытого флакона не рекомендуется.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на коагулометре программу для определения АЧТВ.
- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки коагулометра. (Ячейка коагулометра для Коагуло-реагента должна быть снабжена магнитной мешалкой).
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу измерения.
- Считать результаты.

Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре и ручным методом на термобане

Внести в кювету анализатора:	Объем
Плазма исследуемая (контрольная), мкл	50
Коагуло - реагент, мкл	50
Инкубировать при 37°C точно 3 мин.	
Кальций хлористый 0,025 М раствор, мкл	50

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

В процессе измерения АЧТВ зарегистрировать время от момента добавления в кювету коагулометра раствора кальция хлорида до момента образования сгустка.

Результаты измерения активированного частичного тромбопластинового времени пациента должны включаться в отчет как «АЧТВ в секундах». Эти результаты должны соотноситься с нормальным диапазоном значений АЧТВ, принятым в лаборатории для данного реагента, который также должен быть включен в отчет.

Значения АЧТВ контрольной плазмы никогда не должны использоваться в качестве нормального диапазона.

Коагуло-реагент можно использовать при определении активности фактора внутреннего пути свертывания.

Коагуло - реагент чувствителен к присутствию гепарина, поэтому набор Коагуло-экспресс можно использовать для мониторинга гепаринотерапии.

Следует учитывать, что:

- Время от взятия образца крови до проведения анализа должно быть не более 1 часа, так как период полураспада нефракционированного гепарина составляет около 1,5 ч.
- Образец крови для анализа должен быть отобран таким образом, чтобы предотвратить агрегацию и активацию тромбоцитов с последующим выбросом фактора PF4, инактивирующего гепарин.
- Когда возможно, следует до начала терапии гепарином установить базовые показатели АЧТВ пациента.
- Значения АЧТВ могут меняться в зависимости от используемых методик, оборудования, партий реагента и гепарина, поэтому каждой лаборатории следует принять собственные терапевтические диапазоны, и проверять их при изменении одного из перечисленных факторов.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения АЧТВ следует контролировать с помощью реагента «Плазма контрольная (пул здоровых доноров) Плазма Н по ТУ 9398-004-05595541-2009» производства НПО РЕНАМ, МБООИ Общество больных гемофилией, код КМ-1.

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 укупоренном виде в холодильнике 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 укупоренном состоянии.

Стабильность приготовленных реагентов

Реагент	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C	+37°C
Коагуло-реагент	14 суток	1 сутки	2 мес.	-
Кальций хлористый	24 месяца		-	8 час

Транспортирование наборов должно осуществляться при температуре от плюс 2 до плюс 8°C 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 25°C не более 10 суток. Замораживание не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора Коагуло-экспресс 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 Реахром-АТШ 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 транспортным средством подразделения к месту обеззараживания и утилизации.

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 наборы реагентов Реахром-АТШ, 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

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений 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.
4. Turi DC, and Peerschke EI. Sensitivity of Three Activated Partial Thromboplastin Time Reagents to Coagulation Factor Deficiencies. Am J. Clin. Pathol. 1986; 85:43-49.
5. Eikelboom JW, Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: Time for a fresh look. Thromb Haemost 2006; 96: 547-52
6. Bates SM, Johnston M, Hirsh J, Ginsberg JS. Use of a fixed activated partial thromboplastin time ratio to establish a therapeutic range for unfractionated heparin. Arch Intern Med 2001; 161: 385-91.
7. Olson JD, Arkin CF, Brandt JT, et al. College of American Pathologists Conference XXXI on laboratory monitoring of anticoagulant therapy: laboratory monitoring of unfractionated heparin therapy. Arch Pathol Lab Med. 1998; 122: 782-98.

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