АЧТВ-ТЕСТ Код ПГ-7/1

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ-тест) по ТУ 9398-017-05595541-2009

НАЗНАЧЕНИЕ

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, факторов контакта, присутствия специфических ингибиторов факторов свертывания VIII и IX. АЧТВ является широко применяемым методом мониторинга 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 неспецифичных ингибиторов, например волчаночного антикоагулянта, АЧТВ может удлиняться.

Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ-тест) предназначен для работы на всех типах полуавтоматических и автоматических коагулометров.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

АЧТВ-реагент, лиофильно высушенный - 4 мл/флакон – 7 флаконов,
Кальций хлористый 0,025 М раствор - 10 мл/флакон - 3 флакона.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 560 анализов плазмы крови при расходе по 50 мкл реагентов на один анализ.

Принцип метода

К исследуемой плазме крови последовательно добавляют АЧТВреагент, представляющий собой водный раствор эллаговой кислоты (активатор внутреннего пути свертывания) в комплексе с соевыми фосфолипидами, и кальций хлористый. В процессе измерения АЧТВ регистрируют время от момента добавления ионов кальция до момента образования сгустка.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определение АЧТВ: билирубин в концентрации до 0,2 г/л; гемоглобин (свободный) – до 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, гепарина, варфарина, 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 АЧТВ, полученный при определении АЧТВ у не менее 100 здоровых доноров, составляет в среднем 25 -35 сек и указан в паспорте для каждой серии набора.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов предназначен для диагностики in vitro. Класс потенциального риска применения набора - 2а.

Набор реагентов АЧТВ-тест 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».

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.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Коагулометр любого типа с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие отобрать 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- термобаня на 37°С 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 АЧТВ-тест 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 анализируемого биологического материала

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% (0,109 моль/л) 5,5-водным цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) 2-водным цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°С в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g).

Плазму крови после получения или анализируют сразу, или помещают во флаконы с плотно закрывающимися крышками и замораживают при температуре не выше минус 20°С.

Условия хранения анализируемого 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°С. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18-20°С и хранение при этой температуре не более 2 мес.

Ограничения по использованию анализируемого 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 анализировать не позднее, чем через 4 часа.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

АЧТВ-реагент. АЧТВ-реагент представляет собой лиофильно высушенный реагент на основе соевых фосфолипидов и активатора – эллаговой кислоты. Внести во флакон с АЧТВ-реагентом 4 мл дистиллированной воды, растворить при покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 30 минут после растворения.

Кальций хлористый 0,025М раствор. Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при температуре плюс 37°С. Повторно прогревать вскрытый флакон не рекомендуется.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на коагулометре программу для определения АЧТВ.
- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки коагулометра.
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу измерения.
- Считать результаты.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре и ручным методом на термобане

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

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

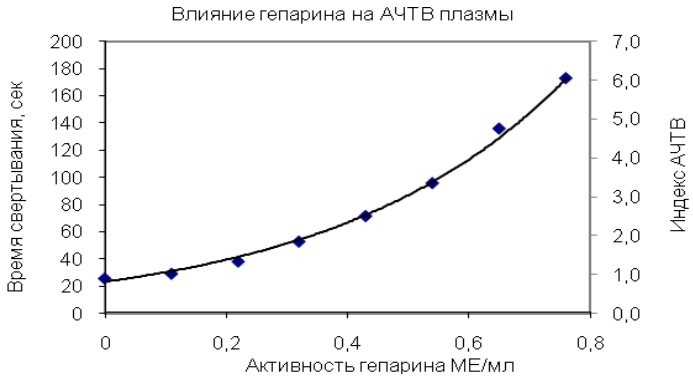
В процессе измерения АЧТВ зарегистрировать время от момента добавления в кювету коагулометра раствора кальция хлорида до момента образования сгустка.

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.

АЧТВ-реагент чувствителен к присутствию гепарина, поэтому его возможно использовать в качестве реагента, позволяющего проводить мониторинг гепаринотерапии.

На графике приведен пример зависимости времени свертывания плазмы от содержания в ней различного количества нефракционированного гепарина, полученного с использованием конкретной серии АЧТВ-реагента.



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.

АЧТВ-реагент можно использовать при определении активностей факторов внутреннего пути свертывания.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения АЧТВ следует контролировать с помощью Плазмы контрольной (пул здоровых доноров) Плазма Н производства НПО РЕНАМ, код КМ-1.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 24 месяца. Набор стабилен в течение всего срока годности реагента при условии хранения в укупоренном виде при температуре от плюс 2 до плюс 8°С.

Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укупоренном состоянии.

Стабильность приготовленных реагентов

Реагент	+2-8°С	+18-25°С	-18-20°С	+37°С
АЧТВ-реагент	14 суток	1 сутки	2 мес.	-
Кальций хлористый	В укупоренном виде - 24 мес		-	8 часов

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°С. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°С не более 10 суток. Замораживание набора АЧТВ-тест не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора АЧТВ-тест 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 АЧТВ-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 на бирку название организации, дату и ФИО исполнителя и помещают на участок временного хранения до вывоза транспортом специального подразделения к месту обеззараживания и утилизации.

Наборы реагентов АЧТВ-тест, 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.

СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

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

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru