ИНСТРУКЦИЯ по применению

Набор реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени

Наименование теста: активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ).
Тип анализируемого образца: плазма крови.
Единицы измерения определяемого параметра: секунда.
Описание целевого аналита: АПТВ - один из наиболее наиболее распространенных и чувствительных тестов для выявления коагуляционных нарушений. АПТВ – тест, выявляющий исключительно плазменные дефекты внутренней системы активации X фактора в первой (образование протромбиназы) фазе свертывания крови. Удлинение АПТВ отражает дефицит плазменных факторов (кроме VII и XIII) и наблюдается при их значительном (ниже 25-10%) снижении. Антифосфолипидные антитела и неспецифические ингибиторы (антикоагулянты волчаночного типа) вызывают удлинение АПТВ, однако при их низкой концентрации выраженного изменения АПТВ может не произойти. Укорочение АПТВ отмечается в первой (гиперкоагуляционной) фазе острого ДВС-синдрома. АПТВ 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. Тест используется для контроля гепаринотерапии, 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 АПТВ может удлиняться.
Указание на метод: тип анализа - определительный.
Анализируемый образец: 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% (0,109моль/л) цитратом натрия, не допускать вспенивания, центрифугировать при температуре +18+25^{0}С в течение 15 минут при 3000 оборотов/мин (1200 g). 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/мкл плазмы.
Время хранения исследуемой плазмы до анализа не более 4 часов при комнатной температуре и не более 8 часов в холодильнике при +2+8°С.
Допускается однократное замораживание плазмы при минус 18-20°С и хранение при этой температуре в морозильнике не более 2 месяцев. После размораживания плазма прогревается до 37^{0}С и используется для исследования. Повторное замораживание не допускается!
Описание принципа аналитического метода: клоттинговый - к исследуемой плазме добавляют вещество, обладающее высокой контактной активностью к фактору Хагемана, такое как водный раствор активатора (стандартизирует начальную фазу процесса свертывания крови и ускоряет этот процесс) в комплексе с фосфолипидами (в данном случае, фосфолипиды являются заменителями тромбоцитарного фактора 3) и ионы Ca^{2+} (в виде раствора кальция хлорида). Время в секундах с момента добавления кальция хлорида и до образования сгустка является результатом АПТВ-теста. Момент образования сгустка детектируется различными способами.
Порядок приготовления реагентов перед использованием:
1.АПТВ-реагент, лиофилизированный с оптически чистым активатором - внести во флакон необходимое количество дистиллированной воды, растворить при покачивании в течение 3 минут и выдержать при комнатной температуре в течение 30 минут.
АПТВ-реагент, жидкий с оптически чистым активатором, готов к использованию.
2.Кальция хлорида раствор готов к использованию. Перед анализом прогреть при 37^{0}С. Повторное прогревание не рекомендуется. Помутнение раствора говорит о его загрязнении.
Срок стабильности реагентов после вскрытия: согласно паспорту качества.
Аналитические характеристики:
чувствительность: чувствительность к присутствию гепарина с минимальной активностью, равной 0,1 МЕ/мл, и волчаночному антикоагулянту согласно паспорту качества;

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

специфичность - результаты определения АПТВ могут зависеть от назначаемых препаратов. Эстрогены у мужчин и оральные контрацептивы у женщин снижают значения АПТВ. Препараты дифенина, гепарина, варфарина, гирудина и других прямых ингибиторов тромбина могут повышать АПТВ. На результаты определения АПТВ влияет соблюдение точного соотношения антикоагулянт:кровь; билирубин до 0,2 г/л, гемоглобин (свободный) до 1,0 г/л, триглицериды до 1,2 г/л не влияют на определение. Уменьшение активности факторов внутреннего пути свертывания ниже 50% приводит к увеличению АПТВ до патологических значений;
точность: ограничения метода - метод определения АПТВ не является линейным и зависит от активности большого числа факторов свертывания, поэтому для уточнения причины удлинения или укорачивания АЧТВ рекомендуется проводить дополнительные исследования.
воспроизводимость: согласно паспорту качества.

Проведение исследования:
пробы и контроли исследуются в дублях.
Предварительно прогреть реагент 2 кальция хлорида раствор до 37^0С.

пипетировать в предварительно прогретую пробирку*	
плазма/контроль	0,1 мл
реагент 1	0,1 мл
инкубировать 3 мин при 37^0С	
реагент 2	0,1 мл
включить секундомер одновременно с добавлением реагента 2, зафиксировать время образования сгустка	

*****при использовании наиболее распространенных коагулометров типа «СОЛАР» необходимо учитывать запрограммированное и реализованное в конструкции прибора требование: *эффективный конечный объем реакционной смеси (плазма+реагенты) должен быть не менее 0,3мл.*

Вычисление: рассчитайте среднее время из двух определений АПТВ и округлите до 0,1 секунды.
Референсные значения: могут варьировать между лабораториями в зависимости от методов и анализаторов, по этой причине каждой лаборатории необходимо установить свой собственный референсный диапазон. Ориентировочные значения указаны в паспорте качества.
Автоматизация: программы адаптаций для автоматических и полуавтоматических анализаторов предоставляются по запросу.
Контроль качества: использовать контрольный материал, соответствующий исследуемому показателю и методу.
Меры предосторожности: компоненты набора предназначены для диагностики in vitro. Образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные. Следует соблюдать все меры предосторожности.
Утилизация: согласно действующим официальным инструкциям.

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