

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

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ-тест) по ТУ 9398-017-05595541-2009 (сокращенное наименование - АЧТВ-тест) предназначено для определения в плазме крови человека активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), отражающего функциональную недостаточность факторов внутреннего и общего путей свертывания плазмы крови (I, II, V, VIII, IX, X, XI, XII), прекалликреина (фактора Флетчера) и высокомолекулярного кининогена (фактора Фитцджеральда) с целью диагностики коагулопатий, гемофилических и тромбофилических состояний и для наблюдения за эффективностью проводимого лечения (например, гепарином).

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

Диагностическая роль. Определение АЧТВ является одним из наиболее распространенных и чувствительных скрининговых тестов для выявления широкого диапазона коагуляционных нарушений. Удлинение АЧТВ связано с наследственным или приобретенным дефицитом фибриногена, протромбина, факторов V, VIII, IX, X, XI, XII, факторов контакта, присутствием специфических ингибиторов свертывания [1]. Кроме того, АЧТВ удлиняется при приеме пероральных антикоагулянтов, снижающих уровни циркуляции факторов II, VII, IX и X, при лечении гепарином и гирудином, в присутствии неспецифических ингибиторов, например волчаночного антикоагулянта, при наличии ДВС-синдрома [2,3]. Измерение АЧТВ является широко применяемым методом мониторинга эффективности парентерального введения гепарина [4]. При этом время свертывания удлиняется пропорционально уровню гепарина. Укорачивание АЧТВ свидетельствует о тромбофилии, тромбоэмболии и тромбозах [2,3].

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

НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ ТЕСТА

Тест АЧТВ является одним из самых информативных основных тестов, который чувствителен к дефициту всех факторов свертывания крови (кроме фактора VII), гепарину, специфическим и неспецифическим ингибиторам. Значения АЧТВ зависят от суммарной активности факторов внутреннего и внешнего путей свертывания крови. Именно поэтому тест АЧТВ применяется для скрининга с целью выявления патологии этих факторов.

Тест используют для выявления широкого спектра коагуляционных нарушений:

- для исследования причины кровотечения или тромбозов;
- для выявления волчаночного антикоагулянта;
- для диагностики гемофилии;
- при исследовании причин патологии беременности;
- для наблюдения за эффективностью антикоагулянтной терапии гепарином;
- для выявления диссеминированного внутрисосудистого свертывания;
- для обнаружения дефицита отдельных факторов свертывания крови;
- для обнаружения специфических ингибиторов свертывания (например, к фактору VIII).

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

АЧТВ-реагент, лиофильно высушенный, объем после восстановления – 4,0 мл/флакон – 7 флаконов,

Кальций хлористый 0,025 М раствор – 10,0 мл/флакон - 3 флакона.

АЧТВ-реагент представляет собой лиофильно высушенную смесь соевых фосфолипидов, эллаговой кислоты, буфера HEPES и стабилизатора (смеси сахарозы и альбумина человека).

Число анализируемых проб биологического материала

Набор предназначен для проведения 280 макроанализов или 560 микроанализов при расходе по 100 мкл или по 50 мкл каждого реагента, соответственно.

Принцип метода

Определяется время свертывания плазмы крови человека в условиях стандартизированной контактной и фосфолипидной активации процесса в присутствии ионов кальция в системе *in vitro*. В этих условиях время образования сгустка фибрина зависит только от активности факторов внутреннего и общего путей свертывания.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

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.

Следующие вещества не влияют на правильность определения АЧТВ: билирубин в концентрации до 0,2 г/л; гемоглобин (свободный) – до 1 г/л; триглицериды – до 1,2 г/л.

Точность

Продолжительность АЧТВ в контрольной нормальной плазме 25 – 35 с.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ в одной пробе плазмы и межфлаконная вариация 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

Ограничения метода

Метод определения АЧТВ не является линейным и зависит от активности большого числа факторов свертывания. Поэтому для уточнения причины удлинения или укорачивания АЧТВ рекомендуется проводить дополнительные исследования.

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».

В состав компонента набора АЧТВ-реагент входит альбумин человека, полученный из плазмы крови, являющейся потенциально инфицированным биологическим материалом. 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;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие отобрать 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- термобаня, поддерживающая температуру 37,0±0,2°C
- секундомер;
- 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.

*Примечание – набор АЧТВ-тест совместим со всеми типами анализаторов, предназначенных для коагулологических исследований параметров гемостаза.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов АЧТВ-тест предназначен для определения АЧТВ в плазме крови человека.

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°C 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°C.

Условия хранения анализируемого биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 ч при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C и не более 8 ч при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18-20°C 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. 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°C. 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.

Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре

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

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

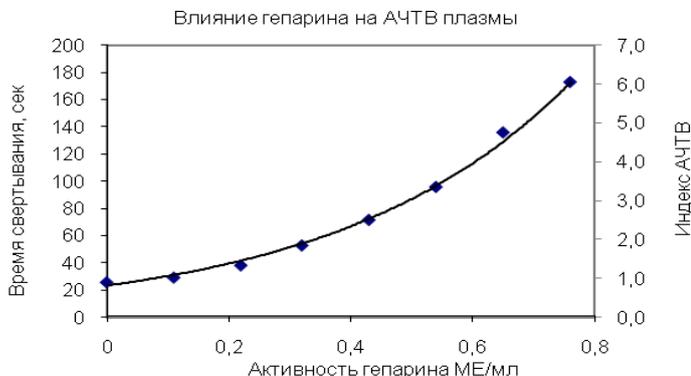
В процессе измерения АЧТВ регистрировать время от момента добавления в кювету коагулометра раствора кальция хлорида до момента образования сгустка.

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 реагента «Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009» производства МБООИ «Общество больных гемофилией», номер по каталогу КМ-1.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

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

Набор стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается хранение набора при температуре до плюс 25°C не более 10 суток.

Замораживание не допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат!

Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно закупоренном состоянии.

Стабильность приготовленных реагентов

| Реагент | от плюс 2 до плюс 8°C | от плюс 18 до плюс 22°C | при плюс 37°C |
|-------------------|--------------------------|-------------------------|---------------|
| АЧТВ-реагент | 14 суток | 1 сутки | - |
| Кальций хлористый | В течение срока годности | | 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°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°C 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 и наборы с истекшим сроком годности относятся к отходам класса 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.

Вывоз отходов класса Б для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Б осуществляется в соответствии с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к порядку накопления, транспортирования, обезвреживания и захоронения токсичных промышленных отходов.

СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

| Символ | Наименование символа |
|--------|--|
| | Номер по каталогу |
| | Медицинское изделие для диагностики in vitro |
| | Температурный диапазон |
| | Обратитесь к инструкции по применению |
| | Биологический риск |
| | Изготовитель |

Дата утверждения инструкции 15 января 2009г.

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. Eikelboom JW, Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: Time for a fresh look. Thromb Haemost 2006; 96: 547-52

ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

- ГОСТ Р 51088-2013. Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.
- ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
- ГОСТ Р ИСО18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация. Предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
- ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
- ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.
- ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции.
- ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия.
- ГОСТ Р ЕН 13612-2010 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ЕН 13641-2010 Устранение или снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro.
- Приказ Минздрава России от 19.01.2017 г №11н «Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинских изделий».

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 (804)333-22-61, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru, сайт www.renam.ru