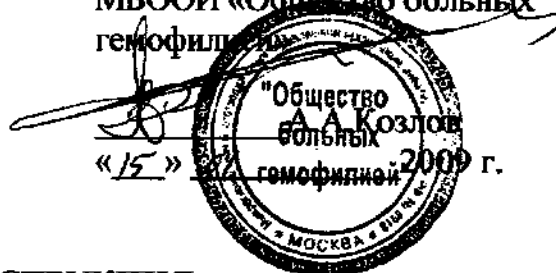


УТВЕРЖДЕНА
приказом Росздравнадзора
от « » 2009 г.
№

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор НПО «РЕНАМ»
МБООИ «Общество больных
гемофилией»



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения активированного
частичного тромбопластинового времени (АЧТВ-тест)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор АЧТВ-тест предназначен 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).

Набор предназначен для проведения 280 или 560 определений при расходе по 0,1 или по 0,05 мл каждого реагента на один анализ, соответственно.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. 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.

2.2. Состав набора

- АЧТВ-реагент, лиофильно высушенный - 7 фл.;
- 0,025 М раствор кальция хлористого - 3 фл. (по 10 мл).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Тест АЧТВ является одним из самых информативных основных тестов, который чувствителен к дефициту всех факторов свертывания крови (кроме ф. VII), к гепарину, к специфическим и неспецифическим ингибиторам.

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 мониторинга антикоагулянтной терапии прямыми антикоагулянтами, в том числе гепаринотерапии;
- для выявления диссеминированного внутрисосудистого свертывания;
- для обнаружения дефицита отдельных факторов свертывания крови;
- для обнаружения специфических ингибиторов свертывания (например, к ф. VIII).

Аналитические характеристики набора: линейность определения – в диапазоне от 20 сек до 180 сек, коэффициент вариации результатов определения – не более 5%, межфлаконная вариация – не более 5%, допустимый разброс результатов при определении АЧТВ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии – не более 5%.

Продолжительность АЧТВ в нормальной плазме – в пределах 25-35 сек.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Меры предосторожности – соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Анализатор крови коагулометрический с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение 2000g (3000 об/мин);
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,05; 0,1 и 2,0 мл;
- пробирки центрифужные, пластиковые или стеклянные силиконизированные;
- Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н);
- раствор цитрата натрия 0,11 М (3,8%);
- вода дистиллированная;
- перчатки пластиковые или резиновые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Смешать в пластиковой (или стеклянной силиконизированной) центрифужной пробирке 9 частей свежесобранной венозной крови пациента с 1 частью 3,8% (0,11 М) раствора цитрата натрия. Центрифугировать в течение 7 мин при 1000 об/мин (240 g) при комнатной температуре (18-25°C), плазму перенести в другую пробирку и повторно центрифугировать в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови.

Немедленно после повторного центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 1,0 мл плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при температуре 2-8°C - не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре - 20°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление и стабильность реагентов

Приготовление АЧТВ-реагента

Внести в один флакон с АЧТВ-реагентом 4,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (18-25°C) и осторожном покачивании. Перед использованием раствор реагента необходимо выдержать при комнатной температуре в течение времени не менее 30 мин.

Раствор АЧТВ-реагента можно хранить в укупоренном виде при температуре 2-8°C не более 14 сут или при комнатной температуре не более 1 сут. Не замораживать.

Приготовление раствора Плазмы Н

Раствор лиофильно высушенной Плазмы Н приготовить согласно инструкции к реагенту. Использовать раствор Плазмы Н одновременно с раствором исследуемой плазмы крови для подтверждения правильности проводимого анализа не менее 2 раз в течение рабочего дня.

Раствор Плазмы Н можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

7.2. Ход исследования

1. Прогреть 0,025 М раствор кальция хлористого при температуре 37° С в течение 3 мин.
2. Приготовить 2 пластиковые кюветы.
3. Внести в одну кювету 0,1 мл раствора Плазмы Н и 0,1 мл раствора АЧТВ-реагента, выдержанного в течение 30 мин при комнатной температуре.
4. Внести во вторую кювету 0,1 мл раствора исследуемой плазмы и 0,1 мл раствора АЧТВ-реагента, выдержанного в течение 30 мин при комнатной температуре.
5. Ровно через 3 мин внести в обе кюветы по 0,1 мл прогретого 0,025 М раствора кальция хлористого и отметить время образования сгустка.
6. Каждое определение повторить 2 раза, рассчитать среднюю арифметическую величину.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрируется время, сек, от момента добавления кальция хлористого до момента образования сгустка фибрина.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

В нормальной плазме время свертывания должно находиться в диапазоне 25-35 сек. В исследуемой плазме время свертывания может быть различным. Если время свертывания укладывается в диапазон значений, соответствующий норме, делают вывод об отсутствии изменений в тесте АЧТВ. Если время свертывания в исследуемой плазме укорочено по сравнению с нормой делают вывод о повышен-

ном свертывании и об угрозе тромбозов. Если время свертывания в исследуемой плазме удлинено по сравнению с нормой, делают вывод о гипокоагуляции. Окончательный диагноз ставят на основании проведения других коагуляционных тестов.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 24 мес.

Раствор АЧТВ-реагента можно хранить в плотно закупоренном виде при температуре 2-8°C не более 14 сут или при комнатной температуре (18-25°C) не более 1 сут. Не замораживать.

Раствор кальция хлористого после вскрытия флакона хранению не подлежит.

Центрифугирование анализируемой плазмы крови следует проводить немедленно после взятия крови, а отбор исследуемой плазмы – сразу же после окончания повторного центрифугирования. Полученную плазму крови использовать для анализа не позднее 4 ч после забора крови.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества набора АЧТВ-тест, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4а, телефон/факс (495) 614-9057, e-mail: renam@blood.ru

и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу: 117241, г. Москва, Научный проезд, д.14 а, тел.: 8-499-120-60-96.

Зав. производства НПО «РЕНАМ» к.б.н.

Зав. лаб. клинической коагулологии ГНЦ РАМН.

д. м. н., профессор

А.Л.Берковский

С.А.Васильев