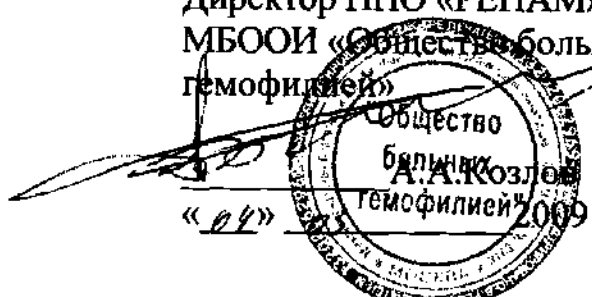


УТВЕРЖДЕНА
приказом Росздравнадзора
от « » 2009 г.
№

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор НПО «РЕНАМ»
МБООИ «Общество больных
гемофилией»
«04» 2009 г.
А.А. Козлов
гемофилией



ИНСТРУКЦИЯ
по применению Набора реагентов для выполнения
коагуляционных тестов
(Коагуло-тест)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Коагуло-тест предназначен для проведения тестов: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), частичное тромбопластиновое время (ЧТВ) (кефалиновое время), активированное время рекальцификации (АВР) (каолиновое время), используемых для выявления широкого диапазона коагуляционных нарушений и контроля за эффективностью проводимого лечения.

Набор предназначен для проведения 100 макро или 200 микро определений при расходе каждого реагента по 0,1 или по 0,05 мл на 1 анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Определяется время свертывания плазмы крови в условиях стандартизованной контактной и (или) фосфолипидной активации процесса и в присутствии ионов кальция. В процессе измерения регистрируют время от момента добавления ионов кальция до момента образования сгустка.

При проведении теста АЧТВ в исследуемую плазму вносят смесь фосфолипидного компонента эрилида и фактора контакта каолина с последующим добавлением кальция хлористого. Инкубирование плазмы с оптимальным стандартизованным соотношением фосфолипидов и каолина активирует факторы внутреннего пути свертывания. Добавление в систему ионов кальция купирует цитрат плазмы и позволяет получить фибриновый сгусток.

ЧТВ определяют при добавлении в исследуемую плазму фосфолипидного компонента эрилида и кальция хлористого.

АВР определяют при добавлении в исследуемую плазму фактора контакта каолина и кальция хлористого. Добавление к исследуемой плазме веществ, обладающих способностью к контактной активации фактора Хагемана, таких как суспензия каолина, стандартизирует начальную фазу процесса свертывания крови и значительно ускоряет этот процесс. При этом дальнейшая активация факторов коагуляционного каскада происходит на собственных (присутствующих в исследуемой плазме) фосфолипидных матрицах.

Вилчаник
04.03.09г.

2.2. Состав набора

- Лиофильно высушенный фосфолипидный компонент эрилид - 2 флакона;
- суспензия каолина (5,0 мл) - 2 флакона;
- 025 М раствор кальция хлористого (5,0 мл) – 2 флакона.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Тест АЧТВ является одним из самых информативных основных тестов, который отражает изменение активности факторов контактного пути активации свертывания крови (внутреннего пути). 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, 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);
- для выявления неспецифических ингибиторов свертывания (волчаночный антикоагулянт).

Качественные и количественные изменения в тромбоцитах и активность факторов VII и XIII данным тестом не определяются.

Тест чувствителен как при гипо-, так и при гиперкоагуляции, может быть использован в диагностике ДВС-синдрома.

Тест ЧТВ позволяет провести определение частичного тромбопластинообразования в присутствии стандартного количества тромбоцито- подобного фосфолипидного компонента (эрилида). Тест особенно чувствителен к дефициту факторов внутреннего тромбопластинообразования и к избытку в плазме антикоагулянтов.

Тест АВР проводится в условиях стандартизации начальной фазы процесса свертывания крови путем добавления суспензии каолина, обладающей высокой контактной активностью. Тест позволяет оценить нарушения тромбоцитарного генеза, а также вызванные дефицитом факторов VIII, IX, XI, XII. Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов. Применяется для экспресс-диагностики. При нормальном АЧТВ изменение АВР свидетельствует о нарушении коагуляционной активности тромбоцитов.

Кефалин-каолиновая смесь чувствительна к присутствию волчаночного антикоагулянта (АЧТВ может удлиняться).

Кефалин-каолиновая смесь чувствительна к факторам внутреннего пути свертывания. Можно использовать для измерения активности факторов свертывания VIII и IX:

- в плазме доноров;

- в плазме больных гемофилией А и В;
- в плазме больных с ингибиторной формой гемофилии А и В;
- в плазме больных с тромбофилическими состояниями (высокий уровень активности факторов VIII и IX);
- в лечебных препаратах криопреципитата.

Кефалин-каолиновая смесь чувствительна к присутствию гепарина. Возможно использовать в качестве реагента, позволяющего проводить мониторинг гепаринотерапии.

Каолиновое время рекомендуется использовать для выявления больных с наличием волчаночного антикоагулянта.

Кефалиновое время рекомендуется использовать для выявления больных с наличием волчаночного антикоагулянта.

В норме АЧТВ составляет 35-45 с, ЧТВ - 55-75 с, АВР - 70-90 с.

Коэффициент вариации результатов параллельных определений в одной пробе плазмы крови составляет не более 10%.

Допустимый разброс результатов при использовании разных наборов одной серии не превышает 10%.

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.).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как данный набор содержит производные человеческой крови, которые следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Коагулометр с набором пластиковых кювет;
- термостат, термобаня на 37° С;
- 0,9% раствор натрия хлористого;
- секундомер;
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение 1200g (3000 об/мин);
- Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н);
 - раствор цитрата натрия 0,11 М (3,8%);
 - пипетки вместимостью 0,1 мл;
 - пипетки вместимостью 5,0 мл;
 - пробирки пластиковые или стеклянные силиконированные;

- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Венозную кровь отобрать в силиконированную стеклянную или пластиковую пробирку на 3,8% (0.11моль/л) цитрате натрия (9:1). Центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g), плазму перенести в другую пробирку и повторно центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 1,0 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при 2 - 8°C не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре - 20°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление реагентов

1. Для теста АЧТВ.

Кефалин-каолиновая смесь. Эрилид (кефалин) - лиофильно высушенный стабилизированный реагент на основе смеси мозговых и соевых фосфолипидов. Внести во флакон эрилидом (кефалином) суспензию каолина. Кефалин-каолиновая смесь готова к проведению анализа через 30 минут после добавления каолина. Перед проведением анализа встряхивать.

2. Для теста ЧТВ (каолиновое время).

Каолин. Суспензия легкой фракции каолина в физиологическом растворе. Является готовым реагентом для проведения анализа. Вскрытый флакон можно использовать повторно при условии хранения при температуре 2-8°C в плотно закрытом состоянии.

3. Для теста АВР (кефалиновое время).

Кефалиновый реагент. Внести во флакон с эрилидом (кефалином) 5,0 мл 0,9% раствора натрия хлористого. Растворить при покачивании. Кефалиновый реагент готов к проведению анализа через 30 минут после добавления 0,9% раствора натрия хлористого.

4. 0,025 М кальция хлорида раствор. Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при 37°C. При температуре 37°C хранить не более 8 ч. Повторное прогревание вскрытого флакона не рекомендуется.

7.2. Стабильность реагентов

Реагенты	2-8°C	18-22°C	- 18-20°C
Кефалин-каолиновая смесь	14 сут	2 сут	2 мес.
Каолин	2 мес.	14 сут	-
Кефалиновый реагент	2 сут	8 ч	2 мес.
0,025 М раствор натрия хлорида	В укупоренном виде - 24 мес		

7.3. Ход исследования

Внести в кювету коагулометра или в пробирку на термобане:	Объем
Плазма контрольная (исследуемая)	0,1 мл
Кефалин-каолиновую смесь (или суспензию каолина, или кефалиновый реагент)	0,1 мл
Инкубировать при температуре 37°C точно 3 мин.	
Кальция хлорида 0,025 М раствор	0,1 мл
Зафиксировать время свертывания от момента внесения кальция хлорида до момента образования сгустка фибрина.	

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрируется время от момента внесения в инкубируемую смесь 0,025 М раствора кальция хлорида до момента образования сгустка фибрина. Каждое определение проводят 2 раза, рассчитывают среднюю арифметическую величину.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Результаты реакции учитывают по времени образования сгустка, сек.

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 жидких компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 24 мес.

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.

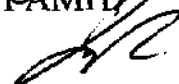
По вопросам, касающимся качества набора АЧТВ-тест, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4а, телефон/факс (495) 614-9057, e-mail: renam@blood.ru

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

