



УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО фирмы
«Технология-Стандарт»

А.П. Момот

2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для определения активированного парциального
тромбопластинового времени
(АПТВ-тест)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ-тест) предназначен для выполнения базовой методики исследования системы гемостаза - определения активированного парциального (частичного) тромбопластинового времени (АПТВ/АЧТВ). Определение АПТВ используется для оценки внутреннего пути свертывания в плазме крови, выявления гипер- и гипокоагуляционного сдвига, контроля за гепаринотерапией при тромбозах, тромбозмболиях и ДВС-синдромах различной этиологии, для диагностики гемофилий (дефицит факторов VIII, IX, XI), наличия в плазме крови антикоагулянтов волчаночного типа, болезни Виллебранда. Реагенты, входящие в состав набора, могут быть использованы для определения каолинового времени свертывания бедной тромбоцитами плазмы.

Набор предназначен только для профессионального использования специалистами в области лабораторной диагностики: заведующими лабораториями, врачами КЛД, врачами-лаборантами, медицинскими лабораторными техниками (фельдшер-лаборант), лаборантами, медицинскими технологами.

Область применения набора: клиническая лабораторная диагностика, клиническая медицина.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Определяется время свертывания (рекальцификации) плазмы крови в условиях стандартизированной контактной (каолином) и фосфолипидной (кефалином) активации процесса в присутствии ионов кальция.

Состав набора:

1. Кефалин (лиофильно высушенный фосфолипидный компонент), на 1 мл - 2 фл.
2. Каолин (концентрированная суспензия 40:1 в дистиллированной воде), 1 мл - 1 фл.
3. Буфер трис-HCl (концентрированный 20:1 раствор, 1 М), 2 мл - 1 фл.
4. Кальция хлорид (концентрированный 20:1 раствор, 0,5 М), 2 мл - 1 фл.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Допустимое отклонение АПТВ от аттестованного значения – не более 10 %.

Коэффициент вариации результатов определения АПТВ – не более 5 %.

Допустимый разброс результатов определения АПТВ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии – не более 10 %.

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Набор реагентов используется только для применения *in vitro*.

Реагенты, входящие в состав набора, в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

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

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- коагулометр (при отсутствии коагулометра - секундомер, водяная баня на +37 °С, пробирки);
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,05-0,2 и 0,1-1,0;
- цилиндр мерный вместимостью 100 мл;
- пробирки;
- вода дистиллированная;
- плазма-калибратор («Мультитех-калибратор» кат. № 773, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- контрольная плазма с нормальным диапазоном значений («Техноклот Н» кат. № 774, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- контрольная плазма с патологическим диапазоном значений («Техноклот П» кат. № 775, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование - сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 4 ч назад, а также замороженной плазмы крови. Для данного анализа не рекомендуется хранение образцов биологического материала при температуре +2... +8 °С в связи с возможностью холодовой активации факторов свертывания.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Разведение кефалина

В один флакон с кефалином внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) до полного растворения реагента. В результате получают раствор кефалина, который до использования должен быть выдержан при комнатной температуре не менее 60 мин.

1.2. Приготовление АПТВ-реагента

1. Концентрированный буфер трис-НСI и концентрированную суспензию каолина перенести из флаконов в мерный цилиндр и общий объем довести дистиллированной водой до 40,0 мл. В результате получают рабочую суспензию каолина.

2. Для приготовления АПТВ-реагента смешать в пробирке необходимые объемы реагентов, согласно таблице 1.

Таблица 1

Приготовление АПТВ-реагента

Необходимое количество определений	Объемы смешиваемых реагентов (мл)	
	Раствор кефалина	Рабочая суспензия каолина
6	0,05	0,6
12	0,1	1,2
18	0,15	1,8
24	0,2	2,4

После приготовления АПТВ-реагент выдержать при комнатной температуре (+18... +25 °С) не менее 15 мин. Перед применением АПТВ-реагент необходимо встряхнуть.

1.3. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды).

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

2.1. Определение АПТВ на полуавтоматическом коагулометре или мануально

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл плазмы-калибратора или анализируемого образца пациента.

2. Инкубировать при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 1 мин.

3. Добавить в кювету или в пробирку (при мануальном определении) 0,1 мл АПТВ-реагента, имеющего комнатную температуру ($+18... +25^{\circ}\text{C}$).

4. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида (имеющего температуру $+37^{\circ}\text{C}$) и начать отсчет времени свертывания до образования фибринового сгустка (при мануальном определении – при периодическом покачивании пробирки).

Объем смешиваемых реагентов и плазмы может отличаться для разных моделей коагулометров.

2.2. Определение каолинового времени свертывания на полуавтоматическом коагулометре или мануально

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл анализируемого образца плазмы.

2. Инкубировать при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 1 мин.

3. Добавить в кювету или в пробирку (при мануальном определении) 0,1 мл рабочей суспензии каолина, имеющей комнатную температуру ($+18... +25^{\circ}\text{C}$).

4. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида (имеющего температуру $+37^{\circ}\text{C}$) и начать отсчет времени свертывания до образования фибринового сгустка (при мануальном определении – при периодическом покачивании пробирки).

Нормативные показатели каолинового времени свертывания устанавливаются в каждой лаборатории на основании исследования группы здоровых людей.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

АПТВ в норме у здоровых людей при мануальном определении составляет **30-42 с**, при коагулометрическом – **28-40 с**, в зависимости от типа коагулометра.

Значения, полученные у здоровых лиц в различных лабораториях, зависят от реагентов и анализаторов, а также от локальных особенностей выполнения преаналитического этапа исследования и способа регистрации коагуляции, поэтому в каждой лаборатории должны быть приняты собственные референтные интервалы.

Удлинение времени свертывания возможно при различных заболеваниях и синдромах (коагулопатии, в том числе гемофилии, ДВС-синдром, антифосфолипидный синдром и др.), а также при назначении антикоагулянтов.

4. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества рекомендуется использовать контрольную плазму с нормальным диапазоном значений «Техноклот Н» (кат. № 774), а также контрольную плазму с патологическим диапазоном значений «Техноклот П» (кат. № 775).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ-тест) в зависимости от объема используемых реагентов предназначен для выполнения от 100 до 200 определений (см. таблицу 2).

Таблица 2

Максимальное число определений при разном расходе реагентов

Расход АПТВ-реагента на одно определение	Количество определений
0,1 мл	100
0,05 мл	200

Набор реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ-тест) необходимо хранить при температуре $+2... +8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности набора – **24 месяца** в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, а также однократное замораживание.

Таблица 3

Условия хранения после вскрытия флаконов и приготовления реагентов

Температурный режим	Продолжительность хранения				
	Раствор кефалина	Рабочая суспензия каолина	АПТВ- реагент	Рабочий рас- твор кальция хлорида	Концентриро- ванный раствор кальция хлорида
$+37\text{ }^{\circ}\text{C}$	-	-	-	Не более 1 суток	-
$+18... +30\text{ }^{\circ}\text{C}$	-	-	Не более 3 суток	-	-

+2... +8 °С	Не более 30 суток	Не более 30 суток	Не более 15 суток	-	Не более 30 су- ток
- 20 °С	Замораживание не допускается				

Не следует смешивать реагенты из наборов разных серий.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ОТХОДОВ

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию медицинского изделия следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Медицинское изделие, не подлежащее использованию, а также с истекшим сроком годности относится к медицинским отходам класса А (СанПиН 2.1.3684-21), не содержащим потенциально опасные материалы и вещества (эпидемиологически безопасные отходы).

Все использованные одноразовые расходные материалы, образующиеся при работе с изделием, содержащие образцы плазмы крови пациентов, необходимо подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»), как потенциально инфицированные медицинские отходы класса Б (СанПиН 2.1.3684-21). Сбор, временное хранение и вывоз таких отходов следует выполнять в соответствии со схемой обращения с медицинскими отходами, принятой в организации, осуществляющей медицинскую деятельность.

Реагенты, входящие в состав набора, не являются горючими и взрывоопасными. Сильное нагревание вторичной упаковки (коробки и блистера) может приводить к их возгоранию.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

МАРКИРОВКА ИЗДЕЛИЯ

На флаконах и упаковке изделия нанесены следующие символы:



Медицинское изделие для диагностики



Серийный номер

in vitro



Температурный диапазон



Использовать до ...

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов для определения активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ-тест), следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <https://www.tehnologia-standart.ru>, <http://технология-стандарт.рф>.

Версия инструкции 1.0.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью 8

Всего) листов

«15» апреля 2021 г.

Директор ООО фирма
«Технология-Стандарт»

А.П. Момот

