

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для выполнения коагуляционных тестов (Коагуло-тест) по ТУ 9398-008-05595541-2009»

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Набор реагентов для выполнения коагуляционных тестов (Коагуло-тест) по ТУ 9398-008-05595541-2009 (сокращенное наименование – Коагуло-тест) предназначено для выполнения в плазме крови человека активированного частичного тромбопластинного времени (АЧТВ), частичного тромбопластинного времени (ЧТВ) (кефалинового времени), активированного времени рекальцификации (АВР) (каолинового времени) коагулологическим методом.

Предназначенный пользователь. Определение АЧТВ, ЧТВ и АВР может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Область применения. Область применения набора – клиническая медицина, медицинская биохимия, клиническая лабораторная диагностика.

Диагностическая роль. АЧТВ, ЧТВ и АВР являются одними из наиболее распространенных и чувствительных скрининговых тестов для выявления широкого диапазона коагуляционных нарушений. Укорачивание АЧТВ свидетельствует о тромбофилии, тромбоэмболии и тромбозах [3]. Удлинение АЧТВ и АВР связано с наследственным или приобретенным дефицитом фибриногена, протромбина, факторов V, VIII, IX, X, XI, XII, факторов контакта, присутствия специфических ингибиторов свертывания, при приеме пероральных антикоагулянтов и лечении гепарином и гирудином, при наличии волчаночного антикоагулянта и ДВС-синдрома [3].

НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ ТЕСТА

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.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

Эриlid (фосфолипидный компонент), лиофильно высушенный – 2 флакона;

Каолин 0,5% суспензия - 5,0 мл/флакон – 2 флакона;

Кальций хлористый 0,025 М раствор - 5,0 мл/флакон - 2 флакона.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 200 анализов плазмы крови при расходе по 50 мкл реагентов на один анализ.

Принцип метода

АЧТВ. 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. В процессе измерения АЧТВ регистрируют время от момента добавления ионов кальция до момента образования сгустка.

АВР. 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.

ЧТВ. Принцип основан на определении времени свертывания плазмы при добавлении к ней оптимального количества фосфолипидов и кальция хлористого.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

Уменьшение активности факторов внутреннего пути свертывания ниже 50% приводит к удлинению АЧТВ и АВР до патологических значений.

Результаты определения АЧТВ и АВР могут зависеть от назначаемых препаратов.

Эстрогены у мужчин и оральные контрацептивы у женщин снижают значения АЧТВ и АВР. Препараты дифенина, гепарина, варфарина, гирудина и других прямых ингибиторов тромбина могут повышать значения АЧТВ и АВР.

На результаты определения АЧТВ, АВР ЧТВ влияет выбор антикоагулянта и соблюдение точного соотношения антикоагулянт:кровь.

Тест чувствителен к присутствию в крови дефицита факторов внутреннего пути свертывания, прямых и непрямых антикоагулянтов, волчаночного антикоагулянта.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ, ЧТВ и АВР в одной пробе плазмы одним набором не превышает 10%. Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ, ЧТВ и АВР в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10%.

Значения, соответствующие нормальным*

АЧТВ, сек	35 – 45
АВР, каолиновое время, сек	50 – 100

*Точные значения указываются в паспорте на набор.

Удлинение теста указывает на:

- гипокоагуляцию;
- гемофилию А, В, или врожденную недостаточность фактора XI;
- дефицит факторов II, V, VIII, IX, XI, XII или фибриногена;
- болезнь фон Виллебранда;
- II и III фазы (нормо- и гипокоагуляционные фазы) ДВС-синдрома;
- наличие специфических ингибиторов свертывания;
- наличие неспецифических ингибиторов свертывания;
- дефицит витамина К;
- тяжелая патология печени;
- лечение непрямыми антикоагулянтами;
- лечение прямыми антикоагулянтами.

Укорочение теста указывает на гиперкоагуляцию, склонность к тромбообразованию, на I (гиперкоагуляционную) фазу ДВС-синдрома. Укорочение теста может быть связано с ошибками, допущенными при взятии крови и получении плазмы на стадии преаналитического этапа.

Ограничения метода

Клиническая диагностика не должна основываться только на результатах определения АЧТВ, ЧТВ и АВР набором Коагуло-тест. При постановке диагноза должны быть рассмотрены клинические симптомы и другая значимая тестовая информация.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro*. Класс опасности 2а.

Набор реагентов Коагуло-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 эрилида входит смесь фосфолипидов, полученных из мозга кроликов, являющихся потенциально инфицированным биологическим материалом. Безопасность каждой партии биологического материала при производстве эрилида подтверждается ветеринарным сертификатом изготовителя мозга кроликов. Тем не менее, не следует исключать остаточного минимального риска при работе с реагентом.

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;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- термобаня на 37°C и секундомер (для ручного определения);
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл;
- реагент для приготовления стабилизатора крови (Цитрат натрия) или вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% раствор натрия хлорида);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов Коагуло-тест предназначен для определения АЧТВ, АВР и ЧТВ в плазме человеческой крови.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

Процедура получения 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 г).

Условия хранения биологического материала

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

Повторное замораживание образцов исследуемой плазмы не допускается, т.к. при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная деградация белковых веществ.

Ограничения по использованию 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/μl плазмы.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для теста АЧТВ

Кефалин-каолиновая смесь. Внести во флакон с эрилидом 5,0 мл суспензии каолина. Растворить при покачивании. Кефалин-каолиновая смесь готова к проведению анализа через 30 минут после добавления каолина. Перед проведением анализа встряхивать.

Для теста АВР (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 2-8°C в плотно закрытом состоянии.

Для теста ЧТВ (кефалиновое время)

Кефалиновый реагент. Внести во флакон с эридом 5,0 мл физиологического раствора. Растворить при покачивании. Кефалиновый реагент готов к проведению анализа через 30 минут после добавления физиологического раствора.

Кальций хлористый 0,025 М раствор. Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при 37°C. Повторное прогревание вскрытого флакона не рекомендуется.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

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 и ручным методом на термобане

Внести в кювету анализатора или в пробирку на термобане:	Объем, мкл
Плазму контрольную (исследуемую)	50
Кефалин-каолиновую смесь (или суспензию каолина, или кефалиновый реагент)	50
Инкубировать при температуре 37°C точно 3 мин.	
Кальций хлористый 0,025 М раствор	50

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

В процессе измерения АЧТВ, АВР и ЧТВ зарегистрировать время от момента добавления ионов кальция до момента образования сгустка.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

В случае удлинения АЧТВ следует провести тест со смешением плазмы пациента с нормальной донорской плазмой в соотношении 1:1. Если АЧТВ остается удлиненным, это означает, что образец содержит гепарин или антифосфолипидные антитела (волчаночный антикоагулянт) или специфические ингибиторы факторов свертывания. Если тест со смешением плазм показывает нормальные результаты, то вероятен дефицит факторов свертывания VIII, IX, XI или XII. Для выявления истинной причины удлинения теста АЧТВ следует проводить дополнительные исследования.

Тест АЧТВ применяют для одностадийного измерения активности факторов свертывания VIII, IX, XI и XII, используя соответствующие субстрат дефицитные плазмы, калибровочную плазму (Мультикалибратор) и контрольные плазмы в нормальной и патологической областях НПО «РЕНАМ».

Международные организации ISTH/ICSH рекомендуют тест АЧТВ в качестве надежного метода контроля антикоагулянтной терапии гепарином, так как для этого теста характерна почти линейная зависимость результатов от концентрации гепарина. В присутствии терапевтических доз гепарина АЧТВ удлиняется приблизительно в 1,5 – 2,5 раза (точные значения диапазона удлинения каждая лаборатория должна устанавливать самостоятельно). АЧТВ тест следует проводить одновременно с определением протромбинового и тромбинового времени.

Каолиновое время. Рекомендуется использовать для выявления пациентов с наличием волчаночного антикоагулянта.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические АЧТВ, ЧТВ и АВР следует контролировать с помощью реагента Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009 номер по каталогу производителя КМ-1.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 24 месяца. Не использовать набор после истечения срока годности! Набор стабилен в течение всего срока годности реагента при условии хранения в укупоренном виде при температуре 2-8°C. Допускается хранение при температуре до плюс 25°C не более 10 суток.

Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укупоренном виде.

Стабильность приготовленных реагентов

Реагенты	от плюс 2 до плюс 8°C	от плюс 18 до плюс 22°C	от минус 18 до минус 20°C
Кефалин-каолиновая смесь	14 суток	2 суток	2 месяца
Каолин	5 суток	2 суток	-
Кефалиновый реагент	2 суток	8 часов	2 месяца
Кальций хлористый 0,025 М раствор	В укупоренном виде - 24 месяца		

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 не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора Коагуло-тест требованиям Технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с набором Коагуло-тест с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу опасности Б.

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на ¾, 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.

Наборы реагентов Коагуло-тест, не подлежащие использованию, и наборы с истекшим сроком годности относятся к отходам класса Г. Сбор и временное хранение отходов класса Г осуществляется в маркированные емкости («Отходы. Класс Г»).

Диагностические средства собираются в одноразовую маркированную упаковку любого цвета (кроме желтого и красного) в соответствии с требованиями нормативных документов в зависимости от класса опасности отходов. Вывоз отходов класса Г для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Г осуществляется в соответствии с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к порядку накопления, транспортирования, обезвреживания и захоронения токсичных промышленных отходов.

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. Turi DC, and Peerschke EI. Sensitivity of Three Activated Partial Thromboplastin Time Reagents to Coagulation Factor Deficiencies. Am J. Clin. Pathol. 1986; 85:43-49.
5. 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 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 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.

– 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 ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.

– Приказ Минздрава России от 19.01.2017 г №11н «Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинских изделий».

СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

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

Дата утверждения инструкции 4 марта 2009 г.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, корп. 2.

тел/факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru.