

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Набор реагентов для количественного определения активности антитромбина III в плазме крови хромогенным методом (Реахром АТIII тест) по ТУ 21.20.23-075-05595541-2022»

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики in vitro «Набор реагентов для количественного определения активности антитромбина III в плазме крови хромогенным методом (Реахром АТIII тест) по ТУ 21.20.23-075-05595541-2022» (сокращенное наименование – Реахром АТIII тест) предназначено для количественного определения активности антитромбина III (далее – АТIII) в плазме крови хромогенным методом на автоматических анализаторах с целью выявления наследственного и приобретенного дефицита АТIII.

Предназначенный пользователь. Определение активности антитромбина III с помощью набора Реахром АТIII тест может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Диагностическая роль. Реахром АТIII тест применяется для выявления наследственного и приобретенного дефицита физиологического антикоагулянта АТIII – основного ингибитора тромбина, приводящего к развитию диссеминированного внутрисосудистого свертывания и острых тромбозов.

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

НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ АНАЛИТА

Антитромбин III или кофактор гепарина – основной антагонист тромбина при образовании этого фермента в крови. В отсутствие гепарина АТIII медленно и необратимо ингибирует тромбин и другие факторы свертывания и фибринолиза. В присутствии гепарина АТIII становится быстрым ингибитором этих ферментов. Наследственный и приобретенный дефицит АТIII в крови приводит к развитию диссеминированного внутрисосудистого свертывания и, в некоторых случаях, к развитию острых тромбозов. Сниженная концентрация АТIII наблюдается у больных с заболеваниями печени (при циррозе), с нефротическим синдромом в результате экскреции ингибитора с мочой. Концентрацию АТIII снижают оральные контрацептивы и инъекции гепарина [1-4].

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**Состав набора**

Тромбин человека с гепарином, лиофильно высушенный – 40 МЕ во флаконе – 4 флакона; Плазма-калибратор, лиофильно высушенная – объем после восстановления 1,0 мл, во флаконе – 1 флакон;

Хромогенный субстрат, лиофильно высушенный – 8 мкМ во флаконе – 4 флакона;

Буфер имидазольный – 5,0 мл во флаконе – 1 флакон.

Тромбин человека получен из донорской плазмы и содержит гепарин, стабилизатор бычий сывороточный альбумин и консервант асид натрия в концентрации 0,05 г/л.

Плазма-калибратор с установленной активностью АТIII получена из донорской плазмы с добавлением буфера HEPES.

Буфер имидазольный - «Буфер имидазольный концентрированный («Буфер имидазольный») по ТУ 9398-035-05595541-2011» (ФСР 2011/12508) производства МБООИ «Общество больных гемофилией», Россия.

Хромогенный субстрат - пептид (Tos-Gly-Pro-Arg)-паранитроанилид с добавлением маннитола.

Компоненты набора Реахром АТIII тест упакованы в стеклянные флаконы, укупоренные резиновыми пробками и снабженные полимерными резьбовыми колпачками любого цвета.

Комплект поставки

Набор реагентов Реахром АТIII тест.

Инструкция по применению.

Паспорт на серию набора реагентов Реахром АТIII тест.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор Реахром АТIII тест предназначен для проведения 120 определений на анализаторах System и 320 определений на анализаторах ACL.

Количество определений на других автоматических анализаторах зависит от конструкции анализатора.

Принцип метода

Метод определения активности АТIII основан на способности АТIII нейтрализовать тромбин в присутствии гепарина. Активность АТIII определяют в плазме крови, добавляя к ней избыток тромбина с гепарином. При этом происходит ингибирование тромбина комплексом АТIII-гепарин пропорционально количеству АТIII в плазме. Оставшееся количество тромбина катализирует отщепление паранитроанилина (pNA) от синтетического хромогенного субстрата. Абсорбция свободного pNA, определяемая при длине волны 405 нм, обратно пропорциональна активности АТIII в анализируемой пробе.

Процесс идет по следующей схеме:

АТIII + гепарин (избыток) + тромбин (избыток) →

→ АТIII-гепарин-тромбин + тромбин (остаток).

Тромбин (остаток) + субстрат-pNA → Пептид + pNA.

МЕТОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КАЛИБРАТУРЕ

Активность АТIII в плазме-калибраторе устанавливают при аттестации каждой серии против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против 3-го Международного Стандарта Антитромбина III, код 06/166, полученного из National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Значения активности АТIII в плазме-калибраторе указаны в паспорте медицинского изделия.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**Аналитическая специфичность**

Использование для анализа избытка тромбина с гепарином и специфического хромогенного субстрата к нему обеспечивает специфичность метода определения активности АТIII в плазме крови пациента.

Влияние потенциально интерферирующих веществ

Следующие вещества не влияют на правильность определения активности АТIII: свободный гемоглобин - не более 2,0 г/л, триглицериды – не более 10,0 г/л, билирубин – не более 0,2 г/л. При превышении указанных концентраций возможно получение ложно заниженных результатов.

Аналитическая чувствительность

Минимальная активность АТIII, определяемая набором Реахром АТIII тест - не более 10%.

Точность

Активность АТIII в плазме-калибраторе в диапазоне от 80 до 120%. Допустимое отклонение от аттестованного значения – не более 5%. Точное значение активности АТIII в плазме-калибраторе указано в паспорте на серию набора Реахром АТIII тест.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения активности АТIII – не более 5%. Межфлаконная вариация – не более 5%. Допустимый разброс результатов определения активности АТIII в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии – не более 5%.

Диапазон определяемых значений активности АТIII

С помощью набора Реахром АТIII тест можно определить не менее 10% активности АТIII. Верхний предел не ограничен.

Линейность в диапазоне определяемых активностей АТIII

Линейность определения активности АТIII зависит от модели анализатора. Отклонение в тесте на «линейность» в диапазоне активности АТIII от 10 до 100% - не более 5%.

Тест на «открытие»

Отклонение в тесте «на открытие» - не более 5%.

Тест на соответствие калибратора контрольному лабораторному раствору

Отклонение в тесте на соответствие калибратора контрольному лабораторному раствору – не более 5%.

Значения активности АТIII, соответствующие нормальным

Нормальный диапазон значений активности АТIII, полученный при определении АТIII набором Реахром АТIII тест у не менее 100 здоровых доноров, составляет 80-120%, что соответствует биологическому референтному интервалу [1].

Ограничения метода

Клиническая диагностика не должна основываться только на результатах определения активности АТIII набором Реахром АТIII тест. При постановке диагноза должны быть рассмотрены клинические симптомы и другая значимая тестовая информация.

ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ**Диагностическая специфичность**

Диагностическая специфичность метода при определении активности АТIII с помощью набора Реахром АТIII тест у здоровых доноров составляет:

Исследуемая группа	Количество испытуемых образцов	Диагностическая специфичность, %	
		По результатам клинических испытаний	С ДВ* 95%
Здоровые доноры	50	90	85,1-94,9

Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность метода при определении активности АТIII с помощью набора Реахром АТIII тест у разных групп пациентов составляет:

Исследуемая группа	Количество испытуемых образцов	Диагностическая чувствительность, %	
		По результатам клинических испытаний	С ДВ* 95%
Пациенты с сепсисом	25	89,3	82,2 - 96,4
Пациенты с циррозом печени	25	76,0	66,1 - 85,9

*ДВ – доверительная вероятность

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов Реахром АТIII тест предназначен только для диагностики in vitro. Класс потенциального риска применения набора – 2а.

Набор реагентов Реахром АТIII тест не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду и не представляет рисков, связанных с возможностью возгорания.

При работе с набором и образцами крови следует соблюдать правила, описанные в следующих документах: СП 2.1.3678-20 от 24.12.2020 «Санитарно-эпидемиологические требования к эксплуатации помещений, зданий, сооружений, оборудования и транспорта, а также условиям деятельности хозяйствующих субъектов, осуществляющих продажу товаров, выполнение работ или оказание услуг» и СанПиН 3.3686-21 от 28.01.2021 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

При работе с набором 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.

⚠ Плазма-калибратор и тромбин с гепарином получены из плазмы крови человека, карантинизированной и проверенной на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg. Тем не менее, не следует исключать остаточного минимального риска при работе с набором, поскольку плазма крови человека является потенциально опасным биологическим материалом.

⚠ Реагент тромбин с гепарином, входящий в набор Реахром АТIII тест, содержит консервант асид натрия, который может вступать в реакцию со свинцом и медью водопроводной системы с образованием потенциально взрывоопасных азидов металлов.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Автоматический анализатор открытого типа с оптической системой регистрации результатов реакции;
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы механические или полуавтоматические одноканальные переменного объема, от 1 до 5 мл и от 100 до 1000 мкл;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М) или
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- мерный цилиндр вместимостью 100 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

Примечание - Набор реагентов Реахром АТIII тест совместим со всеми типами автоматических анализаторов с длиной волны 405 нм, предназначенных для исследования параметров гемостаза.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**Вид анализируемого биологического материала**

Набор реагентов Реахром АТIII тест предназначен для определения активности АТIII в плазме 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) цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумную систему для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) цитратом натрия , центрифугировать при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25 °С в течение 15 минут при 3000 об/мин (1200g).

Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 часов при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25 °С и не более 8 часов при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре от минус 18 до минус 20 °С и хранение при этой температуре не более 2 месяцев.

Ограничения по использованию биологического материала

При работе с кровью общим правилом является немедленное отделение плазмы от форменных элементов, так как некоторые вещества могут поглощаться и инактивироваться эритроцитами и лейкоцитами.

Повторное замораживание образцов исследуемой плазмы не допускается, так как при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная деградация белков.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Рабочий раствор тромбина с гепарином. Во флакон с лиофильно высушенным тромбином внести дистиллированную воду: для анализаторов Sysmex - 6,0 мл, для анализаторов ACL – 5,0 мл. Растворить содержимое при осторожном покачивании. Время растворения реагента в дистиллированной воде при комнатной температуре - не более 3 минут. Раствор готов для проведения анализа через 20 минут после приготовления.

Раствор хромогенного субстрата. Во флакон с хромогенным субстратом внести дистиллированную воду: для анализаторов Sysmex - 2,0 мл; для анализаторов ACL – 4,0 мл, оставить без перемешивания на 20 минут, а затем содержимое флакона тщательно перемешать. Время растворения реагента в дистиллированной воде при комнатной температуре - не более 30 минут.

Раствор плазмы-калибратора. Во флакон с лиофильно высушенной плазмой-калибратором внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Время растворения реагента в дистиллированной воде при комнатной температуре - не более 3 минут. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после приготовления.

Рабочий буферный раствор. Буфер имидазоловый концентрированный развести в 20 раз (содержимое флакона перенести в мерную емкость, довести до 100 мл дистиллированной водой и тщательно перемешать). pH рабочего буферного раствора должен составлять от 7,35 до 7,45.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Выбрать на анализаторе программу для определения АТIII.
- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки анализатора.
- Запустить программу Calibrate, калировка прибора.
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки анализатора.
- Запустить программу определения АТIII.
- Считать результаты.

Примечание - Калибровочный график должен быть построен для каждой серии набора Реахром АТIII тест, а также для каждого используемого анализатора.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Автоматический анализатор регистрирует скорость нарастания оптической плотности при расщеплении хромогенного субстрата.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Образцы с высоким уровнем активности АТIII могут выйти за пределы линейности, что приводит к искажению результатов. Поэтому точные значения активности АТIII для таких образцов могут быть получены при дополнительном разведении исходной плазмы в 2 раза буферным раствором для разведения образцов, используемым в соответствующем анализаторе. При этом полученный результат должен быть умножен на 2.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения активности антитромбина III следует контролировать с помощью медицинского изделия «Реагент для контроля правильности определения параметров свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем (Плазма контрольная)» по ТУ 9398-026-05595541-2009» производства МБООИ «Общество больных гемофилией», Россия, номер по каталогу КМ-2, ФСП 2009/05424.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 24 месяца. Не использовать набор после истечения срока годности! Набор стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в укупоренном виде в холодильнике при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С. Допускается хранение при температуре до плюс 25 °С не более 10 суток. Замораживание наборов не допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат!

Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укупоренном состоянии.

Стабильность приготовленных реагентов

Реагенты/Срок хранения	Температура хранения, °С, в диапазоне		
	плюс 2 - плюс 8	плюс 18 – плюс 25	минус 18 – минус 20
Раствор тромбина с гепарином	5 суток	2 суток	2 месяца
Раствор хромогенного субстрата	14 суток	5 суток	2 месяца
Раствор плазмы – калибратора	8 часов	4 часа	2 месяца
Рабочий буферный раствор	1 месяц	5 суток	Не замораживать!

Транспортирование наборов должно осуществляться при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора Реахром АТIII 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 содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» (СанПиН 2.1.3684-21 от 28.01.2021) отходы от работы с набором Реахром АТIII тест с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу Б.

В соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 наборы реагентов Реахром АТIII тест, за исключением Буфера имидазолового, не подлежащего использованию, и наборы с истекшим сроком годности относятся к отходам класса Б.

Отходы класса Б 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 для дальнейшей передачи в организации, имеющие соответствующую лицензию, с целью последующего уничтожения на специально оборудованных площадках в соответствии с требованиями, предусмотренными существующими Федеральными законами и с соблюдением обязательных требований по охране окружающей среды.

Компонент набора Буфер имидазоловый, не подлежащий использованию, с истекшим сроком годности, и не состоящий в контакте с плазмой крови пациентов, относится к отходам класса А. Отходы класса А собирают в многоразовые емкости или одноразовые пакеты любого цвета, кроме желтого и красного, с надписью «Отходы. Класс А», утилизируют и транспортируют в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

ЛИТЕРАТУРА И НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

1. Алан, Г.Б. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам / Г.Б. Алан. – М.: Лабора, 2013. – 1280 с.
2. Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушения гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 292 с.
3. Kottke-Marchant, K. Antithrombin deficiency: issues in laboratory diagnosis / K. Kottke-Marchant, A. Duncan // Pathology&Laboratory Medicine. – 2002. – Vol. 126, №11 –Р. 1326-1336.
4. Tait, R.C. Prevalence of antithrombin deficiency in the healthy population./ R.C. Tait. // Br. J. Haematol. – 1994 – Vol.87 – Р. 106-112.
5. 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.
6. ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании медицинских изделий, на этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
7. ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2.Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
8. ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
9. ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.
10. ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции.
11. ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия.
12. ГОСТ Р ЕН 13612-2010 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro.
13. ГОСТ Р ЕН 13641-2010 Устранение или снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro.
14. ГОСТ ISO 17511-2011 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам.
15. 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
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель
	Объем восстановленного раствора

Дата утверждения инструкции 10.10.2023

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