

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для определения анти Ха активности гепарина коагулологическим методом (Реаклот-гепарин) по ТУ 9398-024-05595541-2011»

### НАЗНАЧЕНИЕ

**Предназначенное применение.** Медицинское изделие для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для определения анти Ха активности гепарина коагулологическим методом («Реаклот-гепарин») по ТУ 9398-024-05595541-2011» (сокращенное наименование «Реаклот-гепарин») предназначено для мониторинга за введением гепарина (в том числе низкомолекулярного), путем определения его анти Ха активности в плазме крови.

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

**Предназначенный пользователь.** Определение активности гепарина с помощью набора Реаклот-гепарин может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

**Диагностическая роль.** Мониторинг за введением гепарина позволяет в первую очередь не допустить геморрагических осложнений и в тоже время оценить эффективность антикоагулянтной терапии.

### ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

#### Состав набора

Субстратная плазма, лиофильно высушенная – 2 мл/флакон – 2 шт;  
 Реагент 1 - фактор Ха и фосфолипиды, лиофильно высушенный - 2мл/флакон – 2 шт;  
 Кальция хлорида 0.035M раствор – 5 мл/флакон – 1 шт;  
 Плазмы-калибраторы – 1 мл/флакон – 3 шт;  
 Плазмы контрольные – 1 мл/флакон – 2 шт.

#### Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 40 анализов на полуавтоматических коагулометрах. Количество анализов на автоматических коагулометрах зависит от конструкции прибора.

#### Принцип метода

Метод основан на способности небольших количеств гепарина исследуемой плазмы в присутствии антитромбина III (АТIII) нейтрализовать экзогенный активированный фактор Ха.

Процесс происходит в два этапа:

1. инактивация избытка фактора Ха комплексом АТIII-гепарин.
2. измерение коагулологической активности остаточного фактора Ха на фосфолипидной мембране в присутствии ионов кальция.

Источником АТIII, фибриногена и фактора V служит субстратная плазма.

### МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КАЛИБРАТОРАМ И КОНТРОЛЬНЫМ МАТЕРИАЛАМ

Активность гепарина в плазмах-калибраторах и контрольных плазмах устанавливаются при аттестации каждой серии против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против Третьего Международного Стандарта низкомолекулярного гепарина, код 11/176, полученного из National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Значение активности гепарина в плазмах-калибраторах и в контрольных плазмах указано в паспорте медицинского изделия.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения активности гепарина: билирубин в концентрации не более 0,2 г/л; свободный гемоглобин - не более 2,0 г/л; триглицериды - не более 10,0 г/л. При превышении указанных концентраций возможно получение ложных результатов.

#### Чувствительность

Набор Реаклот-гепарин позволяет определять не более 0,05 антиХа ед/мл активности гепарина.

#### Воспроизводимость

Активность гепарина в плазмах-калибраторах составляет:

- уровень 0 – 0 антиХа ед/мл;
- уровень 1 – 0,4 - 0,6 антиХа ед/мл;
- уровень 2 – 0,7 - 1,1 антиХа ед/мл.

Допустимое отклонение от аттестованного значения – не более 10%.

Коэффициент вариации результатов определения активности гепарина не превышает 10%. Допустимый разброс результатов при параллельном определении активности гепарина в одной пробе крови разными наборами одной серии не превышает 10%.

#### Диапазон определяемых значений активности

С помощью набора Реаклот-гепарин можно определить активность гепарина в диапазоне от 0 до 1,1 антиХа ед/мл.

**Линейность определения в диапазоне определяемых концентраций**  
 Отклонение от линейности в диапазоне активности гепарина от 0 до 1,1 антиХа ед/мл - не более 10%.

#### Значения активности, соответствующие нормальным

При введении гепарина в профилактических целях его активность в плазме должна составлять 0,1 – 0,3 антиХа ед/мл.

При введении гепарина в терапевтических целях его активность в плазме должна составлять 0,3 – 0,7 антиХа ед/мл.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов Реаклот-гепарин предназначен только для диагностики *in vitro*. Класс потенциального риска применения набора –2а.

Набор реагентов Реаклот-гепарин 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: «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность» (СанПиН 2.1.3.2630-10 от 30.09.2010); Санитарно-эпидемиологические правила «Профилактика ВИЧ-инфекции» (СП 3.1.5.2826 от 11.01.2011).

⚠ Плазмы-калибраторы, контрольные плазмы и Реагент фактора Ха 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.

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

- Автоматический или полуавтоматический коагулометр открытого типа;
- центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема от 20 до 200 мкл и от 200 до 1000 мкл;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% трехзамещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109M) или
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% трехзамещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- мерный цилиндр вместимостью 100 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

#### Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов Реаклот-гепарин предназначен для определения активности гепарина 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 вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C в течение 15 минут при 3000 об/мин (1200g).

#### Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 2 часов при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C и не более 8 часов при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре от минус 18 до минус 20°C 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 белковых веществ.

## ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Реагент 1 - фактор Ха и фосфолипиды.

Во флакон с лиофильно высушенным реагентом 1 внести 2 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

**Субстратная плазма.** Во флакон с лиофильно высушенной субстратной плазмой внести 2 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

**Плазмы-калибраторы.** Внести во флакон с плазмой-калибратором 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор плазмы нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20 минут.

**Плазм контрольные.** Внести во флакон с плазмой контрольной 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор плазмы нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20 минут.

**Раствор кальция хлорида 0.035M.** Реагент готов для использования.

## ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Построение калибровочного графика.

Для построения калибровочного графика используют плазмы-калибраторы с известными активностями гепарина, указанными в паспорте медицинского изделия. На оси ординат (Y) по логарифмической шкале отложить величины времени свертывания, полученные для каждой плазмы-калибратора, а на оси абсцисс (X) по линейной шкале отложить активность гепарина в антиХа ед/мл плазмы. Правильность построения калибровочного графика проконтролировать с помощью контрольных плазм.

### Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре.

Внести в кювету анализатора:	Объем
Субстратная плазма	100 мкл
Исследуемая плазма (Плазма-калибратор или контрольная плазма)	25 мкл
Инкубировать при 37°C точно 1 минуту.	
Реагент 1	50 мкл
Инкубировать при 37°C точно 2-3 минуты*.	
Раствор кальция хлорида 0.035M	50 мкл

\*в зависимости от типа коагулологического анализатора.

## РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При проведении исследования регистрируют время от момента добавления хлорида кальция до момента образования сгустка.

## РАСЧЕТЫ

Используя калибровочный график и значение времени свертывания исследуемого образца определить активность гепарина.

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Образцы исследуемой плазмы с высоким уровнем активности гепарина могут полностью нейтрализовать фактор Ха в системе, что приводит к искажению результатов. Поэтому точные значения активности гепарина для таких образцов могут быть получены при предварительном разведении исследуемой плазмы субстратной плазмой в 2 или 4 раза. При этом результат, считанный из калибровочного графика, должен быть умножен на 2 или 4 соответственно.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Правильность и воспроизводимость определения активности гепарина следует контролировать с помощью контрольных плазм, входящих в состав набора Реаклот-гепарин.

## 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°C. Допускается хранение при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание наборов не допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, примененные не подлежат!

Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укупоренном состоянии.

### Стабильность приготовленных реагентов.

Реагенты	+2-8°C	+18-22°C	-18-20°C
Реагент 1	2 дня	1 день	1 мес.
Растворы плазм-калибраторов	8 час	4 час	1 мес.
Растворы контрольных плазм	8 час	4 час	1 мес.
Раствор субстратной плазмы	8 часов	8 часов	1 мес.

Раствор кальция хлорида после вскрытия флакона можно хранить при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в закрытом состоянии до окончания срока годности, указанного на этикетке. Прогретый при 37°C раствор должен быть использован в течение 8 часов.

Транспортирование наборов должно осуществляться при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов в соответствии с правилами перевозок, действующими на данном виде транспорта. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание не допускается.

## ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора Реаклот-гепарин 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 «Реаклот-гепарин» с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу Б.

Отходы 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.

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 наборы реагентов «Реаклот-гепарин», 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.

## 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 22 августа 2011 г.

## ЛИТЕРАТУРА И НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

- Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.В., Мелкумян А.Л., Козлов А.А., Нешкова Е.А., Яровая Г.А. Методы определения активности гепарина: учебно-методическое пособие; М.: ГБОУ ДПО РМАПО, 2015, 64 с.
- Нарушения реакций образования тромбина: Под ред. Р.У. Колмена; М.: Медицина, 1988, 240 с.
- 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 ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- 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.
- Приказ Минздрава России от 19.01.2017 г №11н «Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинских изделий».

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 (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: [info@renam.ru](mailto:info@renam.ru).