

**ИНСТРУКЦИЯ**

**по применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени в плазме крови клоттинговым методом (АЧТВ-тест) по ТУ 21.20.23-069-05595541-2020»**

**НАЗНАЧЕНИЕ**

**Предназначенное применение.** Медицинское изделие для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени в плазме крови клоттинговым методом (АЧТВ-тест) по ТУ 21.20.23-069-05595541-2020» (сокращенное наименование – «АЧТВ-тест») предназначено для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) в плазме крови клоттинговым методом с целью выявления широкого диапазона коагуляционных нарушений и мониторинга гепаринотерапии.

**Предназначенный пользователь.** Определение продолжительности АЧТВ с помощью набора АЧТВ-тест может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

**Диагностическая роль.** Определение АЧТВ является одним из наиболее распространенных и чувствительных скрининговых тестов для выявления широкого диапазона коагуляционных нарушений [1]. Укорачивание АЧТВ свидетельствует о тромбофилии, тромбоэмболии и тромбозах [2, 3]. Удлинение АЧТВ связано с наследственным или приобретенным дефицитом фибриногена, протромбина, факторов V, VIII, IX, X, XI, XII, факторов контакта, присутствием специфических ингибиторов свертывания, при приеме пероральных антикоагулянтов и лечении гепарином и гирудином, при наличии волчаночного антикоагулянта и ДВС-синдрома [3, 4]. Измерение АЧТВ является широко применяемым методом мониторинга эффективности парентерального введения гепарина [5]. При этом время свертывания удлинится пропорционально уровню гепарина.

**Область применения.** Область применения набора АЧТВ-тест – клиническая медицина, клиническая лабораторная диагностика.

**Научная обоснованность теста**

Тест АЧТВ является одним из самых информативных основных тестов, который чувствителен к дефициту всех факторов свертывания крови (кроме фактора VII), гепарину, специфическим и неспецифическим ингибиторам. 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.

Тест используется 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 наблюдения за эффективностью антикоагулянтной терапии гепарином;
- для выявления диссеминированного внутрисосудистого свертывания;
- для обнаружения дефицита отдельных факторов свертывания крови;
- для обнаружения специфических ингибиторов свертывания (например, к фактору VIII).

**ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

**Состав набора**

АЧТВ-тест поставляется в трех вариантах исполнения.

**Вариант исполнения 1,** номер по каталогу производителя – ПГ-7/1:

АЧТВ-реагент, лиофильно высушенный, объем после восстановления 4,0 мл во флаконе – 7 флаконов;

Кальций хлористый 0,025 М раствор, 10,0 мл во флаконе – 3 флакона.

**Вариант исполнения 2,** номер по каталогу производителя – ПГ-7/2:

АЧТВ-реагент, лиофильно высушенный, объем после восстановления 5,0 мл во флаконе – 5 флаконов;

Кальций хлористый 0,025 М раствор, 5,0 мл во флаконе – 5 флаконов.

**Вариант исполнения 3:** Номер по каталогу производителя – ПГ-7/3:

АЧТВ-реагент, жидкий, 5,0 мл во флаконе – 5 флаконов;

Кальций хлористый 0,025 М раствор, 5,0 мл во флаконе – 5 флаконов.

В варианте исполнения 1 все компоненты набора расфасованы в стеклянные флаконы, укупоренные резиновыми пробками и обжатые алюминиевыми колпачками.

В вариантах исполнения 2 и 3 все компоненты набора расфасованы в стеклянные флаконы, укупоренные резиновыми пробками и снабженные полимерными резьбовыми колпачками.

АЧТВ-реагент представляет собой смесь соевых фосфолипидов, эллаговой кислоты, буфера NEPES, стабилизатора и консерванта ProClin 300.

Кальций хлористый 0,025 М раствор – «Реагент для рекальцификации цитратной плазмы и цитратной крови («Кальций хлористый») по ТУ 9398-039-05595541-2011», ФСР 2012/13122, производства МБООИ «Общество больных гемофилией», Россия.

**Комплект поставки**

АЧТВ-тест, в вариантах исполнения;

инструкция по применению;

паспорт медицинского изделия;

**Число анализируемых проб биологического материала**

Набор предназначен для проведения 560 определений (вариант исполнения 1) или 500 определений (варианты исполнения 2 и 3) при расходе по 50 мкл каждого реагента на одно определение.

**Принцип метода**

Метод основан на определении времени свертывания исследуемой плазмы крови в условиях стандартизированной контактной и фосфолипидной активации процесса в присутствии ионов кальция в системе in vitro. В этих условиях время образования сгустка фибрина зависит только от активности факторов внутреннего и общего путей свертывания. В процессе измерения АЧТВ регистрируют время от момента добавления ионов кальция до момента образования сгустка [1-3].

**АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

**Аналитическая специфичность**

Уменьшение активности факторов внутреннего пути свертывания ниже 50% приводит к увеличению АЧТВ до патологических значений [1-2].

Результаты определения АЧТВ могут зависеть от назначаемых препаратов. Эстрогены у мужчин и оральные контрацептивы у женщин снижают значения АЧТВ. Препараты дифенина, гепарина, варфарина, гирудина и других прямых ингибиторов тромбина могут повышать АЧТВ. На результаты определения АЧТВ влияет выбор антикоагулянта и соблюдение точного соотношения антикоагулянт: кровь [1-3].

**Влияние потенциально интерферирующих веществ**

Следующие вещества не влияют на правильность определение АЧТВ: билирубин в концентрации до 0,2 г/л; гемоглобин (свободный) – до 1,0 г/л; триглицериды – до 1,2 г/л.

**Значения, соответствующие нормальным**

Среднее значение продолжительности АЧТВ в плазме 50-100 здоровых доноров должно находиться в диапазоне от 24 до 36 секунд и указано в паспорте для каждой серии набора [1].

**Воспроизводимость**

Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ, межфлаконная вариация и допустимый разброс результатов определения АЧТВ разными наборами одной серии - не более 5%.

**Ограничения метода**

Метод определения АЧТВ не является линейным и зависит от активности большого числа факторов свертывания. Поэтому для уточнения причины удлинения или укорачивания АЧТВ рекомендуется проводить дополнительные исследования.

**ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ**

**Диагностическая специфичность**

Диагностическая специфичность метода при определении АЧТВ с помощью набора АЧТВ-тест у здоровых доноров составляет:

Исследуемая группа	Число измеренных проб	Диагностическая специфичность, %	
		По результатам клинико-лабораторных испытаний	С ДВ* 95%
Здоровые доноры	50	84,0	80,5 – 87,5

\*ДВ – доверительная вероятность

**Диагностическая чувствительность**

Диагностическая чувствительность метода при определении АЧТВ с помощью набора АЧТВ-тест у разных групп пациентов составляет:

Исследуемая группа	Число измеренных проб	Диагностическая чувствительность, %	
		По результатам клинико-лабораторных испытаний	С ДВ 95%
Пациенты с гемофилией А	25	100	88,7 - 100
Пациенты с гемофилией В	25	100	88,7 - 100

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Набор реагентов предназначен для диагностики in vitro.

Класс потенциального риска применения набора - 2а.

Набор реагентов АЧТВ-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: 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»; СП 3.1.5.2826-10 от 11.01.2011 «Профилактика ВИЧ-инфекции».

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.

**ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

- Анализатор любого типа;
- центрифуга лабораторная, позволяющая проводить центрифугирование со скоростью 1000-3000 об/мин;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие отобрать объемы от 50 до 200 мкл и от 1,0 до 5,0 мл;
- наконечники одноразовые для дозаторов объемом от 50 до 200 мкл и от 1,0 до 5,0 мл;
- термобаня, поддерживающая температуру плюс 37,0±0,2 °С;
- секундомер;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М);
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

Примечание – набор АЧТВ-тест совместим со всеми типами автоматических и полуавтоматических анализаторов, предназначенных для коагулологических исследований параметров гемостаза.

**АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

**Вид анализируемого биологического материала**

Набор реагентов АЧТВ-тест предназначен для определения АЧТВ 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° С в течение 15 минут при 3000 оборотов/мин (1200 г).

Плазму крови после получения или анализируют сразу, или помещают во флаконы с плотно закрывающимися крышками и замораживают при температуре не выше минус 20°С.

**Условия хранения биологического материала**

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 часов при комнатной температуре и не более 8 часов в холодильнике 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 в морозильнике 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.

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/μл плазмы.

Плазму, содержащую НФГ, следует центрифугировать не позднее, чем через один час после получения крови, хранить при комнатной температуре и анализировать не позднее, чем через 4 часа после получения.

## ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

### АЧТВ-реагент

Внести во флакон с АЧТВ-реагентом 4,0 мл дистиллированной воды (для варианта исполнения 1) или 5,0 мл (для варианта исполнения 2), растворить при покачивании. Время растворения АЧТВ-реагента в дистиллированной воде при комнатной температуре от 18 до 25°C должно составлять не более 3 минут. Реагент готов к проведению анализа через 30 минут после растворения.

Примечание – жидкий АЧТВ-реагент является готовым реагентом для проведения исследования и не требует подготовки.

### Кальций хлористый 0,025 М раствор

Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при температуре плюс 37°C в течение 5 минут. Повторно прогревать вскрытый флакон не рекомендуется.

## ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Автоматический анализатор

- Выбрать на анализаторе программу для определения АЧТВ.
- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки коагулометра.
- Поместить исследуемые (контрольные) образцы плазмы в соответствующие ячейки анализатора.
- Запустить программу определения АЧТВ.
- Считать результаты.

### Полуавтоматический анализатор

Анализ проводят по следующей схеме:

Внести в ювету анализатора:	Объем, мкл
Плазма исследуемая (контрольная)	50
АЧТВ-реагент	50
Инкубировать при 37°C точно 3 минуты	
Кальций хлористый 0,025 М раствор	50
Зафиксировать время образования сгустка фибрина, с	

### Регистрация результатов

В процессе измерения АЧТВ зарегистрировать время в секундах от момента добавления в ювету анализатора раствора кальция хлорида до момента образования сгустка.

Результаты измерения должны соотноситься с нормальным диапазоном значений АЧТВ, принятым в лаборатории для данного реагента.

Значения АЧТВ контрольной плазмы никогда не должны использоваться в качестве нормального диапазона.

АЧТВ-реагент чувствителен к присутствию гепарина, поэтому АЧТВ-реагент возможно использовать в качестве реагента, позволяющего проводить мониторинг гепаринотерапии.

При мониторинге гепаринотерапии следует учитывать, что:

Время от взятия образца крови до проведения анализа должно быть не более 1 часа, так как период полураспада НФГ составляет около 1,5 ч.

Образец крови для анализа должен быть отобран таким образом, чтобы предотвратить агрегацию и активацию тромбоцитов с последующим выбросом фактора PF4, инактивирующего гепарин.

Когда возможно, следует до начала терапии гепарином установить базовые показатели АЧТВ пациента.

Значения АЧТВ могут меняться в зависимости от используемых методов, оборудования, партий реагента и гепарина, поэтому каждой лаборатории следует принять собственные терапевтические диапазоны, и проверять их при изменении одного из перечисленных факторов.

АЧТВ-реагент можно использовать при определении активностей факторов внутреннего пути свертывания.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения АЧТВ следует контролировать с помощью реагента «Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009», номер по каталогу КМ-1, производства МБООИ «Общество больных гемофилией», Россия.

## УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора АЧТВ-тест – 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 набора при температуре до плюс 25 °С не более 10 суток. Замораживание не допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат! Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укупоренном состоянии.

### Стабильность реагентов после первого вскрытия флаконов

Реагент	Температура хранения, °С, в диапазоне		
	плюс 2 – плюс 8	плюс 18 – плюс 25	плюс 37
АЧТВ-реагент, ПГ-7/1, ПГ7/2, реконструированный	3 месяца	30 суток	-
АЧТВ-реагент, ПГ-7/3, жидкий	3 месяца	30 суток	-
Кальций хлористый 0,025 М раствор	30 суток	30 суток	8 часов

Допускается дробное использование как приготовленного раствора лиофильно высушенного АЧТВ-реагента, так и жидкого АЧТВ-реагента в соответствии с указанными выше условиями хранения.

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

## ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора АЧТВ-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-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий» (СанПиН 2.1.3684-21 от 28.01.2021) отходы от работы с набором АЧТВ-тест с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу опасности Б.

В соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 наборы АЧТВ-тест, не подлежащие использованию и с истекшим сроком годности, относятся к отходам класса Б, за исключением Кальция хлористого.

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.

Кальций хлористый, 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.

Вывоз отходов 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.

## СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

Символ	Наименование символа
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов
	Изготовитель

Дата утверждения инструкции 24.04.2020

## ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. - М.: Ньюдиамед, 2001. - 285 с.
2. Берковский А.Л. Скрининговые тесты плазменного гемостаза. Методы исследования / А.Л. Берковский, Е.В. Сергеева., Т.М. Простакова, А.Л. Мелкумян, А.В.Суворов. - М., 2016. - 70 с.
3. Берковский А.Л. Методы определения активности гепарина (учебно-методическое пособие) / А.Л. Берковский и др. - М., 2015. - 64 с.
4. Долгов В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В.В. Долгов, П.В. Свиринов. - М., 2005 - 227 с.
5. Eikelboom J.W., Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the APTT: Time for a fresh look / J.W. Eikelboom, J. Hirsh // Thromb. Haemost. - 2006 - Vol.96 - P. 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 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 18113-1-2015 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 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 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции.
- ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия.
- ГОСТ Р ЕН 13612-2010 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro.
- 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 (804) 333-22-61, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru, сайт: www.renam.ru.