

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активированного частичного (парциального) тромбопластинового времени «МЛТ-АЧТВ»

1. Назначение

Набор предназначен для определения активированного частичного (парциального) тромбопластинового времени (далее АЧТВ). АЧТВ используется для выявления гипо- и гиперкоагуляционного сдвига в крови, диагностики гемофилий (дефицит факторов VIII, IX, X, XI), болезни Виллебранда, контроля за гепаринотерапией при тромбозах, тромбоземболиях и ДВС-синдромах (диссеминированное внутрисосудистое свёртывание) различной этиологии.

2. Принцип действия набора

Принцип метода заключается в определении времени свертывания цитратной плазмы в условиях стандартизированной активации контактной фазы раствором смеси фосфолипидов (растительного происхождения) и активатора (эллаговой кислоты) в присутствии ионов кальция (раствор хлорида кальция). При этом имитируется запуск свертывания по внутреннему пути и выявляется возможный дефицит факторов, участвующих в нем, или наличие ингибиторов свертывания.

3. Состав набора

1. АЧТВ-реагент: лиофильно высушенная смесь фосфолипидов и активатора – 8 флаконов.
2. Раствор хлорида кальция 0,025 М – 3 флакона.
Набор рассчитан на проведение 200 анализов при определении вручную и на коагулометрах с рабочим объемом кюветы 300 мкл, или 400 анализов при определении на коагулометрах с рабочим объемом кюветы 150 мкл.

4. Аналитические и диагностические характеристики

1. АЧТВ нормальной плазмы составляет – 25-38 сек.
2. Коэффициент вариации результатов определения АЧТВ не превышает – 10%.
3. Допустимый разброс результатов определения АЧТВ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает – 10%.

5. Меры предосторожности

Компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны. При работе с плазмой следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы человеческой крови могут содержать возбудителей вирусных инфекций.

6. Оборудование и материалы

1. коагулометр;
2. пипетки для дозирования объемов 50 мкл (или 100 мкл, если рабочий объем кюветы составляет 300 мкл) и 2,5 мл (для растворения реактива);
3. пробирки пластиковые;
4. перчатки резиновые хирургические;
5. вода дистиллированная;
6. центрифуга лабораторная.

7. Приготовление анализируемых образцов крови

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 0,11 М раствор натрия лимоннокислого 3-х замещенного (3,2% раствор 2-водной соли, или 3,8% раствор 5,5-водной соли). Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000 об/мин (1200-1500 г) в течение 10 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, кото-

рую переносят в другую пластиковую пробирку, где хранят до проведения исследования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови!

8. Подготовка компонентов набора

1. *Приготовление смеси фосфолипидов и активатора (далее АЧТВ-реагента).*

Содержимое флакона с АЧТВ-реагентом растворить в 2,5 мл дистиллированной воды. Энергично перемешать и выдержать при комнатной температуре (+18-+25°C) в течение не менее 30 мин.

2. *Приготовление рабочего раствора хлорида кальция.*

Раствор хлорида кальция 0,025 М готов к применению и дополнительных разведений не требует. Перед применением рабочую порцию тромбопластина прогреть в течение 30 мин при температуре +37°C.

9. Проведение анализа

Для коагулометров АПГ2-02, АПГ2-02П, АПГ4-02П:

1. В кювету коагулометра внести **50 мкл** исследуемой плазмы и **50 мкл** АЧТВ-реагента;
2. Инкубировать (прогреть) в течение **180 сек**;
3. Внести в кювету коагулометра **50 мкл** раствора хлорида кальция (0,025 М) и определить время образования сгустка.

<i>Внести в кювету коагулометра</i>	<i>Объем</i>
Плазма исследуемая (или контрольная)	50 мкл
АЧТВ-реагент	50 мкл
Инкубировать при +37 гр. С – 180 сек	
Кальция хлорид (раствор 0,025 М), прогретый при температуре +37°C	50 мкл
Зафиксировать время свертывания в секундах	

Для коагулометров с рабочим объемом кюветы 0,3 мл или ручных методов:

<i>Внести в кювету(пробирку)</i>	<i>Объем</i>
Плазма исследуемая (или контрольная)	100 мкл
АЧТВ-реагент	100 мкл
Инкубировать при +37 гр. С – 180 сек	
Кальция хлорид (раствор 0,025 М), прогретый при температуре +37°C	100 мкл
Зафиксировать время свертывания в секундах	

10. Результаты анализа

Результат выражают в секундах, сравнивают время свертывания контрольной и исследуемой плазмы. В норме активированное частично-тромбопластиновое время свертывания (АЧТВ) составляет 25 – 38 сек.

11. Условия хранения и эксплуатации

Срок годности – 12 месяцев. Хранение набора должно проводиться при температуре +2-+8°C в течение всего срока годности (12 месяцев). Допускается хранение при температуре до +25°C в течение 5 суток. Замораживание не допускается. После растворения смесь фосфолипидов и активатора можно хранить без утраты активности при комнатной температуре +18-+25°C в течение 10 часов, при температуре +2-+8°C – в течение 14 дней.