

**DAC-SPECTROMED SRL**

МД-2012, Молдова, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
 Тел.: /+37322/574900, 574922/23; факс: /+37322/574920
 Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

APTT-DAC-EA

PT MD 11-15796482-003:2003

Только для диагностики «in vitro»

Код 4005A160 4x4 ml
 Код 4005A400 10x4 ml

Хранить при 2-8°C**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВИРОВАННОГО ПАРЦИАЛЬНОГО/ЧАСТИЧНОГО ТРОМБОПЛАСТИНОВОГО ВРЕМЕНИ****НАЗНАЧЕНИЕ**

Тест предназначен для in vitro диагностики и используется для определения активированного парциального/частичного тромбoplastинового времени (АПТТ/АЧТВ).

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ

Активированное парциальное/частичное тромбoplastиновое время используется как основной скрининг для определения нарушений во внутреннем пути свертывания. АПТТ/АЧТВ чувствителен к дефициту и аномалиям VIII, IX, XI, XII, X и II факторов, прекалликреина, высокомолекулярного кининогена и фибриногена. АПТТ/АЧТВ чувствителен к ингибиторам свертывания, таким как люпус-антикоагулянт и продукты деградации фибрина и фибриногена.

ПРИНЦИП

Метод основан на определении времени свертывания бедной тромбоцитами плазмы в присутствии стандартизованного количества цефалина кроличьего мозга с поверхностным активатором. АПТТ/АЧТВ является скрининг тестом для определения качественного и количественного дефицита факторов внутреннего пути свертывания, обуславливающего тенденцию кровоточивости.

СОСТАВ НАБОРА

APTT-Reagent 4 x 4 ml 10 x 4 ml
 Препарат кроличьего мозгового цефалина и эллаговая кислота в качестве активатора с буфером, стабилизаторами и консервантами.
 Calcium Chloride 0,02 M 1 x 16 ml 2 x 20 ml
 Раствор хлорида кальция 0,02 mol/l

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты набора стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке при хранении в оригинальной упаковке при температуре 2-8°C.

Замораживание не допускается.

При хранении во вскрытых, закрытых флаконах при +2-+8°C реагенты стабильны до 5 дней.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

Водяной термостат на 37°C, таймер или коагулометр.
 Дозатор переменного объема до 5 ml. Дозатор на 100 ml.
 Нормальная и патологическая плазма для контроля качества исследования (Coagulo-Cont N, P, P+).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения in vitro.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8% раствор натрия лимоннокислого 3-х замещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1.

Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин.

В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пластиковую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование - сразу же после центрифугирования.

Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад.

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

APTT-Reagent перед использованием поддерживать в состоянии суспензии при помощи перемешивания.

Calcium Chloride 0,02 M: необходимый для работы объем отлить в отдельный флакон и прогреть на водяной бане или в термостате коагулометра при температуре +37°C в течение как минимум 10 минут.

Исключить повторное использование ранее подогретого раствора.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Тест пригоден для мануального определения в соответствии с протоколом, детализированным ниже, и автоматизированного определения в соответствии с инструкцией к анализатору.

Рекомендуется проводить исследование в дубликатах.

Мануальный вариант

1. В стеклянную пробирку внести 0,100 ml плазмы. Инкубировать при температуре +37°C в течение 1-2 минут.

2. Добавить 0,100 ml APTT-Reagent.

3. Инкубировать на водяной бане при температуре +37°C 3 минуты.

4. Добавить 0,100 ml Calcium Chloride 0,02 M, подогретого до +37°C, и включить секундомер.

5. При периодическом покачивании пробирки отметить время образования сгустка фибрина в секундах.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

При мануальном тестировании – 28-42 секунд

При автоматизированном определении на коагулометре – 24-39 секунд.

Рекомендуется определение собственных референтных величин в каждой лаборатории.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальную и патологическую плазму (Coagulo-Cont N, P, P+).

Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Прецизионность: прецизионность интра-анализа была определена с использованием нормальных и аномальных контрольных плазм на ручном (Fibron-1), полуавтоматическом (MLA™ Electra 900C) и полностью автоматическом (Instrumentation Laboratory ACL-100) приборах.

Результаты даны в нижеприведенной таблице:

Проба	Fibron-1 (ручной)	MLA™ Electra 900C (полуавтоматический)	ACL-100 (автоматический)
Контрольный уровень 1	3,3%	2,0%	1,2%
Контрольный уровень 2	1,3%	2,2%	0,6%
Контрольный уровень 3	4,2%	2,3%	0,8%

Корреляция: изучение корреляции было проведено с другим АРТТ реагентом на коагулометрах MLA™ Electra 900C и Instrumentation Laboratory ACL 100.

Результаты даны в нижеприведенной таблице:

Прибор	Коэффициент регрессии	Угловой коэффициент	Пересечение
Electra 900C	0,938	0,727	6,96
ACL100	0,930	0,952	3,76

Чувствительность к фактору: значения АРТТ, полученные с использованием АРТТ реагента были проверены на фактородефицитных плазмах при помощи MLA™ Electra 900C. Результаты даны в нижеприведенной таблице:

Процент фактора	АРТТ – время образования сгустка (сек)			
	Фактор VIII	Фактор IX	Фактор XI	Фактор XII
100%	25,4	25,7	25,8	25,9
60%	28,2	27,8	28,6	29,6
50%	28,7	28,3	30,2	31,5
40%	29,6	30,7	32,0	33,2
30%	33,5	31,1	34,3	35,1
20%	35,0	32,9	36,5	38,7
10%	41,4	36,7	42,4	45,7

Данные значения следует использовать только в качестве руководства. Каждая лаборатория должна установить чувствительность к фактору, используя свои приборы, реагенты и методику.

Чувствительность к гепарину: антикоагуляционное действие гепарина зависит от многих факторов. Каждая лаборатория должна определить относительную чувствительность к гепарину путем добавления известных количеств нефракционированного гепарина к объединенным нормальным плазмам и определения увеличения времени образования сгустка с использованием АРТТ реагента. Нижеприведенные результаты были получены с использованием MLA™ Electra 900C и АРТТ reagent

Концентрация гепарина (единицы/мл)	АРТТ – время образования сгустка (сек)
0,0	23,0
0,1	28,0
0,2	38,1
0,3	59,0
0,4	76,1
0,5	99,4

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

АПТТ/АЧТВ устанавливает плазменные дефекты «внутреннего пути» образования тромбопластина.

Удлинение АПТТ/АЧТВ вызывают:

- недостаток факторов VIII, IX, X, XI или XII; высокомолекулярного кининогена, прекалликреина, фибриногена
- недостаток факторов V и II, ингибиторы этих факторов
- синдром внутрисосудистого свертывания
- присутствие люпус-антикоагулянта
- введение варфарина для предотвращения свертывания;
- гепарин
- избыток антикоагулянтов

Сокращение АЧТВ указывает на активацию свертывания крови.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. АПТТ/АЧТВ обычно изменяется при снижении уровня любого из факторов ниже 30-40 % от нормы.
2. Укорочение времени свертывания может быть обусловлено загрязнением пробы тканевым тромбопластином в результате травмы при венепункции.
3. АПТТ/АЧТВ удлиняется при несоответствии объема антикоагулянта высокому показателю гематокрита или при недостаточном заполнении вакуумной пробирки.
4. Замораживание плазмы снижает чувствительность АПТТ/АЧТВ к люпус-антикоагулянту и к дефициту факторов XII, XI, высокомолекулярному калликреину и прекалликреину.

ЛИТЕРАТУРА

1. Angell RD, Wagner RH Brinkhous KM: Effect of antihemophilic factor on one stage hemophilic test. O Lab Clin Med; 41:637; 1953.
2. Bell W, Alton HG, A brain extract is the substitute for platelet suspensions in the thromboplastin generation test/ Nature; 174:880; 1954.