

Dade[®] Actin[®] FSL Activated PTT Reagent/ Актин FSL

ACTIN FSL

I В строке редакции указывается обновление до предыдущей версии.

Назначение

Жидкие очищенные соевые фосфатиды и фосфатиды головного мозга кролика с активатором плазмы. Реагент активированного частичного тромбопластина с повышенной чувствительностью к волчаночноподобным ингибиторам, используемый для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) и в других соответствующих процедурах.

Резюме и разъяснение

Активированное частичное тромбопластиновое время — комплексный анализ^{1,2}, используемый в основном для выявления аномалий коагуляции внутреннего пути активации. Он также позволяет установить наличие серьезного функционального дефицита факторов II, V, X или фибриногена. АЧТВ также широко предлагается³⁻⁶ к использованию при контроле эффективности терапии нефракционированным гепарином, когда время свертывания увеличивается пропорционально уровню гепарина. У пациентов, принимающих пероральные антикоагулянты, снижаются уровни факторов II, VII, IX и X в циркулирующей крови, поэтому АЧТВ может увеличиваться. В присутствии неспецифических ингибиторов, например, волчаночного антикоагулянта^{1,7}, АЧТВ может увеличиться, но этот эффект непостоянен и в целом рассматривается как скорее связанный с природой используемого реагента АЧТВ. В целом, АЧТВ является значимым клиническим тестом, который широко применяется для диагностики нарушений свертывания и терапевтического мониторинга как геморрагических, так и тромботических расстройств.

Принцип метода

Факторы внутренней системы коагуляции активируются путем инкубации плазмы с оптимальным количеством фосфолипидов и поверхностным активатором. Добавление ионов кальция запускает процесс коагуляции, после чего замеряется время свертывания.

Реагенты

Примечание: **ACTIN FSL** можно использовать в автоматических анализаторах гемостаза. Siemens Healthcare Diagnostics предоставляет справочные руководства (краткие инструкции) для ряда анализаторов гемостаза. Справочные руководства (краткие инструкции) содержат информацию по работе с анализатором и проведению анализа, которая может отличаться от информации, приведенной в настоящей инструкции по применению. В подобном случае информация, приведенная в справочных руководствах (кратких инструкциях), имеет приоритет перед настоящей инструкцией по применению. Также ознакомьтесь с инструкцией по эксплуатации, предоставленной производителем прибора.

Поставляемые материалы

ACTIN FSL, **REF** B4219-1

10 × 2 мл, **ACTIN FSL**, Dade® Actin® реагент FSL для определения активированного ЧТВ

ACTIN FSL, **REF** B4219-2, **REF** 10284499

10 × 10 мл, **ACTIN FSL**, Dade® Actin® реагент FSL для определения активированного ЧТВ

Состав

Dade® Actin® Реагент FSL для определения активированного ЧТВ: очищенные соевые фосфатиды и фосфатиды головного мозга кролика в $1,0 \times 10^{-4}$ растворе эллаговой кислоты с добавлением буфера, стабилизаторов и консервантов. Для очищенных фосфатидов отсутствует общепринятое стандартное содержание.

Предупреждения и меры предосторожности

Только для диагностики *in vitro*.

Подготовка реагента

Перед использованием **ACTIN FSL** нужно перемешать, осторожно переворачивая флакон (5–8 раз).

Хранение и стабильность

После использования храните закрытый контейнер при температуре от 2 до 8 °С. При хранении нераспечатанным при температуре от 2 до 8 °С **ACTIN FSL** можно использовать до истечения срока годности, указанного на этикетке. После распечатывания реагент стабилен 7 дн. при температуре от 2 до 15 °С.

Не замораживать. В спокойном состоянии может образовываться зеленый осадок из эллаговой кислоты и липидов. Перед использованием перемешать, переворачивая флакон. Избегать загрязнения плазмой. Информация по стабильности на борту анализатора указана в справочных руководствах (кратких инструкциях) по каждому анализатору гемостаза.

Признаки истечения срока годности: отклонения от нормальных значений, принятых в лаборатории, при анализе нормальной плазмы или контрольных материалов.

Необходимые материалы, не входящие в поставку

Раствор хлорида кальция (CaCl_2) 0,025 моль/л

Control Plasma N или Dade® Ci-Trol® уровня 1 в качестве контрольного материала для нормального диапазона

Dade® Ci-Trol® уровня 2 или Dade® Ci-Trol® уровня 3 в качестве контрольного материала для патологического/терапевтического диапазона

Гепариновый контроль Dade® Ci-Trol®, низкий

Гепариновый контроль Dade® Ci-Trol®, высокий

Для сбора крови используйте цитрат натрия (0,11 или 0,13 моль/л / 3,2 или 3,8 %) или стандартные коммерческие системы забора крови

Дистиллированная или деионизированная вода без консервантов

Пластиковые пробирки

Пипетки для точного отмеривания 0,1 мл

Анализатор гемостаза

Забор и подготовка образца

Смешайте девять частей свежесобранной крови пациента с одной частью 0,11 или 0,13 моль/л (3,2 или 3,8 %) раствора цитрата натрия. На рынке имеются вакуумные пробирки, содержащие необходимый антикоагулянт; их можно с осторожностью

использовать при анализе свертываемости крови. Для особых исследований предпочтительнее использовать шприц.

Как можно скорее после забора обработайте образец крови на центрифуге при 1 500 x g в течение как минимум 15 мин. при комнатной температуре. Хранить в закрытой пробирке при комнатной температуре.

Если анализ должен проводиться немедленно, плазму можно оставить на осажденных эритроцитах. В противном случае ее необходимо отделить. Чтобы отделить плазму, при помощи пластиковой пипетки для переноса материалов переместите ее в пластиковую пробирку. Не хранить на льду. Анализ негепаринизированной плазмы должен быть проведен не позднее чем через (4) часа после забора крови.

Плазму, содержащую нефракционированный гепарин, следует обработать на центрифуге не позднее чем через один час после забора крови, хранить при комнатной температуре и проанализировать не позднее чем через (4) часа.

Обедненную тромбоцитами плазму можно заморозить при температуре ≤ -20 °C и хранить до (2) недель в морозильнике, не имеющем функции «без инея».

Размораживать замороженную плазму нужно быстро при температуре 37 °C, затем аккуратно перемешать и немедленно провести анализ. Образцы не должны провести при температуре 37 °C более пяти минут. Подробнее о подготовке и хранении образцов см. документ CLSI H21–A5⁸.

Процедура

Выполнение анализа вручную:

Предварительно нагрейте раствор хлорида кальция до температуры 37 °C		
Предварительно нагрейте 0,1 мл ACTIN FSL , выдержав его одну минуту при температуре 37 °C. (Перемешайте перед использованием.)		
Отмерьте пипеткой в пробирки для коагулологии следующие объемы.		
	Тестовый образец	Контрольная плазма
ACTIN FSL (предварительно нагретый)	0,1 мл	0,1 мл
Плазма	0,1 мл	-
Контрольная плазма	-	0,1 мл
Хорошо перемешайте. Инкубируйте при температуре 37 °C в течение 3 мин.		
Предв. нагретый р-р хлорида кальция	0,1 мл	0,1 мл
Одновременно с добавлением CaCl ₂ запустите секундомер. Хорошо перемешайте. После 20 сек. наблюдайте формирование сгустка.		

Примечание. Время инкубации, превышающее 5 мин., может привести к потере факторов V и VIII, и потому не рекомендуется.

В каждой лаборатории должно быть определено оптимальное время нагрева и активации для конкретной аналитической системы.

Использование АЧТВ для мониторинга терапии нефракционированным гепарином

При использовании АЧТВ для этой цели нужно помнить о факторах, которые могут повлиять на результат. Ниже приведены общие соображения.

- A. Время забора имеет значение, поскольку период полураспада *in-vivo* нефракционированного гепарина составляет примерно 1,5 ч⁵. При введении он дает немедленный антикоагуляционный эффект, но величина этого эффекта быстро

- убывает со временем. Эффект особенно заметен при нерегулярных однократных внутривенных инъекциях.
- V. На результат теста может оказать влияние антикоагулянт, используемый для сбора образцов.
 - C. Фактор 4 тромбоцитов, гепарин нейтрализующий фактор в альфа-гранулах тромбоцитов, может быть высвобожден при агрегации или повреждении тромбоцитов. Чтобы предотвратить это явление *in vitro*, образец нужно забирать с минимальными повреждениями. Известно, что низкие температуры индуцируют агрегацию тромбоцитов и высвобождение фактора 4 тромбоцитов, поэтому для исследований с использованием гепарина рекомендуется обработка на центрифуге при комнатной температуре.
 - D. Применимость АЧТВ для мониторинга терапии нефракционированным гепарином сильно зависит от времени. Задержка в тестировании образцов приведет к увеличению показаний АЧТВ. Поэтому анализ всех образцов строго обязательно проводить как можно скорее.
 - E. Повышенное время контактной активации может привести к увеличению показаний АЧТВ в плазме, содержащей гепарин. АЧТВ в гепаринизированной плазме имеет высокую вариабельность с различным временем активации. Обязательно должен быть установлен строгий стандарт оптимального времени активации нагревом для смеси из реагента **ACTIN FSL** и плазмы⁹.
 - F. Различные аналитические системы (ручные, фотооптические и т.д.) имеют разную чувствительность к гепарину. Не следует постоянно использовать разные системы для анализа.
 - G. Где возможно, следует до начала терапии установить базовые показатели АЧТВ по каждому пациенту, чтобы можно было видеть, как АЧТВ отдельного пациента соотносится с нормальным диапазоном, принятым для этого теста в лаборатории.
 - H. Установлено, что имеются отличия в оценке качества нефракционированного гепарина, полученного из разных источников и от разных производителей. *In-vivo* реактивность меняется в зависимости от типа введенного гепарина, особенностей метаболизма пациента и одновременно назначенных препаратов^{5,6}.
 - I. Поскольку показания АЧТВ могут меняться в зависимости от используемых методик, способов, оборудования, партий реагентов и гепарина, каждой лаборатории следует принять собственные терапевтические диапазоны, или верифицировать их в случае изменения одной или более из перечисленных переменных. Этого можно достичь, одновременно определяя АЧТВ и концентрацию гепарина в образцах пациента, получающего гепариновую терапию. На основе данных регрессионного анализа можно построить кривую «доза-эффект» и вывести диапазон АЧТВ, соответствующий концентрации гепарина 0,3 – 0,7 Е/мл (по анализу ингибирования фактора Ха)^{4,5,6}.

Корреляция между временем свертывания АЧТВ и уровнем гепарина обычно низкая в образцах, исследованных в условиях *ex vivo*; во многих случаях полученные значения r^2 составляют менее 0,5. Менее 50 % вариаций АЧТВ в гепаринизированной плазме объясняется разницей в концентрации гепарина в образцах плазмы, исследованных в условиях *ex vivo*^{6,21}.

Внутренний контроль качества

Нормальный диапазон: Dade® Ci-Trol® уровня 1 или Control Plasma N
 Патологический диапазон: Dade® Ci-Trol® уровня 2 или Dade® Ci-Trol® уровня 3
 Мониторинг гепарина: Гепариновый контроль Dade® Ci-Trol®, низкий и высокий
 Два материала контроля качества (один для нормального, один для патологического/терапевтического диапазона) необходимо анализировать в начале серии тестов, при смене флаконов с реагентами и как минимум один раз за 8-часовую смену.
 Контрольный материал следует подготавливать и обрабатывать так же, как образцы пациентов. В каждой лаборатории должны быть приняты собственные доверительные

диапазоны для контрольных материалов. Обычно это от ± 2 до $\pm 2,5$ стандартных отклонения (SD) от среднего значения по контрольному материалу. Если значения по контрольному материалу выходят за доверительный интервал, нужно проверить эти материалы, реагенты и оборудование. Перед включением в отчет показаний по пациентам рекомендуется документировать все шаги, которые были предприняты для обнаружения и устранения проблемы. Для каждой новой серии реагентов или контрольного материала диапазоны нужно устанавливать заново.

Результаты

Результаты измерения активированного частичного тромбопластинового времени включаются в отчет как «АЧТВ в секундах». Эти результаты должны соотноситься с нормальным диапазоном для анализа АЧТВ, принятым в лаборатории. Рекомендуется включать в отчет как результат, полученный по пациенту, так и нормальный диапазон. Контрольные значения системы проверки реагентов никогда не должны использоваться в качестве нормального диапазона. Более того, включение в отчет результатов АЧТВ при приведении только верхней границы нормального диапазона может привести к неверной интерпретации. Низкое значение АЧТВ также может свидетельствовать о развитии нарушений в системе свертывания крови пациента. По результатам дополнительных исследований, Siemens эффективность **ACTIN FSL** зависит от уровня гепарина *in-vitro*.

Ограничения методики

Анализ АЧТВ охватывает весь процесс свертывания, от контактной активации до формирования фибрина. Поэтому его результаты больше подвержены колебаниям, чем результаты более узких анализов. Контроль и использование АЧТВ по этой причине имеют естественные ограничения. Совершенно необходим строгий контроль состояния образцов плазмы. Согласно исследованиям, декомпозиция образца может произойти быстрее, если образец хранится не в холодильнике. Следует избегать образцов плазмы исключительно малого объема (по состоянию до тестирования), поскольку может произойти изменение pH плазмы по сравнению с естественным. Такие изменения могут привести к декомпозиции компонентов плазмы системы свертывания крови. Необходимо помнить, что результат АЧТВ может меняться под действием часто назначаемых препаратов. Было обнаружено снижение показателя АЧТВ у мужчин, принимающих конъюгированный эстроген, и женщин, принимающих оральные контрацептивы^{10,11}. Было отмечено повышение показателя АЧТВ при назначении дифенина, гепарина, варфарина, налоксона и рентгеноконтрастных препаратов^{12,13}. Терапевтические дозы гирудина или иного прямого ингибитора тромбина могут повышать время свертывания¹⁴.

Антибактериальные препараты из группы липогликопептидов (такие как оритаваксин или телаванцин) могут оказывать мешающее влияние на анализы на АЧТВ. См. инструкцию по применению соответствующих препаратов.

Наконец, на результат может повлиять выбор антикоагулянта (например, цитрат или оксалат) и состояние образца (гемолизированный, липемический, парентеральное питание и т.п.)^{6,15,16}.

Последнее особенно важно при оптическом измерении АЧТВ. Дефицит факторов свертывания крови, который должен был проявиться в увеличенном времени свертывания, может быть скомпенсирован повышенным уровнем одного или нескольких других факторов свертывания и выглядеть в результатах нормальным. Аналогично, присутствие активных промежуточных продуктов, которые способны сократить время свертывания, может скрыть состояние, в котором АЧТВ должно было увеличиться. Умеренный или незначительный дефицит каждого из нескольких факторов может оказать кумулятивный эффект на повышение АЧТВ. В образцах, содержащих волчаночноподобный антикоагулянт, **ACTIN FSL** может приводить к получению непостоянных результатов АЧТВ. Если неожиданно получены результаты АЧТВ, выходящие за пределы нормальных значений, следует всегда проводить

дополнительные исследования свертываемости для определения причины таких результатов.

Антикоагулянтное действие гепарина обуславливается его способностью в сочетании с кофактором плазмы оказывать влияние на несколько аспектов механизма свертывания, тем самым снижая скорость формирования фибрина (см. раздел «Использование АЧТВ для мониторинга терапии нефракционированным гепарином»). Низкие уровни антитромбина III способны понижать восприимчивость пациентов к гепариновой терапии. Антитромбин III медленно образует неактивный комплекс с коагулянтными серин-протеазами, тромбином и факторами IXa, Xa, XIa и XIIa. Гепарин существенно ускоряет эту инактивацию, тем самым формируя основу для терапевтического эффекта этих природных полисахаридных соединений. Этот метод не позволяет выявить количественные и качественные изменения тромбоцитов, изолированный дефицит факторов VII и XIII или заболевания сосудов. При использовании **АКТИН FSL** в образцах пациента, содержащих неспецифические волчаночноподобные антикоагулянты, получают более высокие показатели АЧТВ.

В Siemens проведена проверка использования этих реагентов в различных анализаторах на предмет оптимизации работы продукта и удовлетворения заявленных спецификаций. Выполненные пользователем модификации не поддерживаются компанией Siemens, поскольку они могут негативно сказаться на работе системы и результатах анализа. Внося изменения в инструкции или используя эти реагенты в других анализаторах, не упомянутых в кратких руководствах Siemens, пользователь сам несет ответственность за их применимость.

Результаты этого анализа всегда следует интерпретировать, принимая во внимание анамнез пациента, клиническую картину и другие объективные данные.

Ожидаемые значения

Стандартные диапазоны в разных лабораториях различаются и зависят от выборки пациентов, применяемой техники выполнения и методики анализа, оборудования и серии реагентов. Поэтому в каждой лаборатории должны быть приняты собственные нормированные интервалы или проводиться проверки при изменении одного из перечисленных факторов.

В одном из исследований у практически здоровых пациентов с использованием одной из партий **АКТИН FSL** были получены следующие результаты:

	Медиана (секунды)	90 % нормированный интервал (секунды)	
		5-й перцентиль	95-й перцентиль
111 пациентов, система SYSMEX CA-1500	27,3	25,0	31,3
111 пациентов BCS® System	28,6	25,3	33,8

Нормированные диапазоны для других контингентов, например, педиатрических групп, следует устанавливать, где необходимо.

Примечание. В документе CLSI C28-A2 (процитирован в H47-A)^{17,18} указывается, что допустимо применять параметрический подход (среднее \pm 2 SD). Однако сначала нужно убедиться в выполнении критерия, обязательного для этого подхода (нормальное распределение по Гауссу).

Сообщается, что АЧТВ обладает различной чувствительностью к волчаночноподобным ингибиторам¹⁹. При использовании **АКТИН FSL** значение АЧТВ выходило за пределы нормального диапазона в 74 % случаев в 65 образцах плазмы пациентов с положительной пробой на ингибирование тканевого тромбопластина²⁰.

Отдельные рабочие характеристики

АКТИН FSL тщательно приготовлен для получения оптимальных результатов в описанных пределах при использовании для измерения активированного частичного

тромбопластинового времени, а также в рамках других методов исследования коагуляции, для которых необходим реагент активированного частичного тромбопластина.

Исследования точности, проведенные с использованием методик, описанных в настоящем вкладыше, показывают, что надлежащим образом выполненный анализ АЧТВ дает стандартное отклонение (SD), соответствующее коэффициенту вариации (CV) менее чем в 3 % в нормальном диапазоне. В дополнительных клинических исследованиях и собственных исследованиях компании проведены параллельные измерения в патологической, нормальной и контрольной плазме. Согласно результатам значение АЧТВ должно совпадать в пределах 3 %, если анализ выполнен правильно.

Библиография

1. Kamal AH, Tefferi A, Pruthi RK. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. *Mayo Clin Proc* 2007; 82: 864-73.
2. Leung LLK. Perioperative evaluation of bleeding diathesis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006; 457-61.
3. Eikelboom JW, Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: Time for a fresh look. *Thromb Haemost* 2006; 96: 547-52
4. Bates SM, Johnston M, Hirsh J, Ginsberg JS. Use of a fixed activated partial thromboplastin time ratio to establish a therapeutic range for unfractionated heparin. *Arch Intern Med* 2001; 161: 385-91.
5. Hirsh J, Raschke R. Heparin and low-molecular-weight heparin. The seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004; 126: 188S-203S.
6. Olson JD, Arkin CF, Brandt JT, et al. College of American Pathologists Conference XXXI on laboratory monitoring of anticoagulant therapy: laboratory monitoring of unfractionated heparin therapy. *Arch Pathol Lab Med.* 1998; 122: 782-98.
7. Teruya J, West AG, Suell MN. Lupus Anticoagulant Assays. Questions answered and to be answered. *Arch Pathol Lan Med.* 2007; 131: 885-9.
8. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5 (ISBN 1-56238-657-3). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 1908781898 USA, 2008.
9. Hattersley PG, Hayse D. The effect of increased contact activation time on the activated partial thromboplastin time. *Am J Clin Pathol* 1976; 66: 479-82.
10. Ambrus JL, Schimert G, Lajos TZ, et al. Effect of antifibrinolytic agents and estrogens on blood loss and blood coagulation factors during open heart surgery. *J Med* 1971; 2: 65-81.
11. Prasad RN, Koh SC, Viegas OA, Ratnam SS. Effects on hemostasis after two-year use of low dose combined oral contraceptives with gestodene or levonorgestrel. *Clin Appl Thromb Hemost* 1999; 51: 60-70.
12. Solomon GE, Hilgartner MW, Kutt H. Coagulation defects caused by diphenylhydantoin. *Neurology* 1972; 22: 1165-71.
13. Young DS, ed. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 5th ed. Washington: AACC Press, 2000.
14. Greinacher A, Warkentin TE. The direct thrombin inhibitor hirudin. *Thromb Haemost* 2008; 99: 819-29.
15. Soloway HB, Cox SP, Donahoo JV. Sensitivity of the activated partial thromboplastin time to heparin: effect of anticoagulant used for sample collection. *Am J Clin Pathol* 1973; 59: 760-2.
16. Lippi G, Franchini M, Montagnana M et al. Quality and reliability of routine coagulation testing: can we trust that sample? *Blood Coag Fibrinol* 2006; 17: 513-9.

17. CLSI. One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline. CLSI document H47-A [ISBN 1-56238-301-9]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, 1996.
18. CLSI. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Second Edition. CLSI document C28-A2 [ISBN 1-56238-406-6]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, 2000.
19. Mannucci PM, Canciani MT, Mari D, Meucci P. The varied sensitivity of partial thromboplastin and prothrombin time reagents in the demonstration of the lupus-like anticoagulant. Scand J Haematol. 1979; 22: 423-32.
20. Schleider MA, Nachman RL, Jaffe EA, Coleman M. A clinical study of the lupus anticoagulant. Blood 1976; 48: 499-509.
21. Vandiver JW, Vondracek TG. Antifactor Xa Levels versus Activated Partial Thromboplastin Time for Monitoring Unfractionated Heparin. Pharmacotherapy 2012; 32(6): 546–558

Определение символов

На этикетку изделия могут быть нанесены следующие символы:

	Не использовать повторно		Срок годности
	Номер партии		Каталожный номер
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам		Производитель
	Уполномоченный представитель в Европе		Содержит достаточное количество реагентов для анализов
	Биологическая опасность		Медицинское устройство для диагностики <i>In Vitro</i>
	Температурные ограничения		См. инструкцию по пользованию
	Нестерильно		Символ CE
	Содержание		Объем восстановленного раствора
	Уровень		Беречь от солнечных лучей

Actin, BCS, Ci-Trol и Dade являются товарными знаками компании Siemens Healthcare Diagnostics.

SYSTEMEX является товарным знаком компании SYSTEMEX CORPORATION.

(Значения, приведенные для системы BCS®, не учитывают поправочные коэффициенты, принятые в США.)

© 2010 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.

Все права защищены.



Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
35041 Marburg/Germany

Siemens Healthineers Headquarters

Siemens Healthcare GmbH
Henkestraße 127
91052 Erlangen/Германия
Phone: +49 9131 84-0
siemens-healthineers.com