



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Плазма субстратная, дефицитная по фактору X (Плазма субстратная X) по ТУ 9398-041-05595541-2012»

НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* «Плазма субстратная, дефицитная по фактору X (Плазма субстратная X) по ТУ 9398-041-05595541-2012» (далее по тексту – Плазма субстратная X) предназначено для определения активности фактора X (ф. X) свертывания крови в плазме крови пациентов и препаратах фактора X одностадийным клоттинговым методом.

Реагент предназначен для работы ручным методом, а также на всех типах автоматических и полуавтоматических коагулометров.

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

Предназначенный пользователь. Определение активности фактора X с помощью реагента Плазма субстратная X может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Реагент предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Диагностическая роль. Активности коагуляционного фактора X в плазме пациентов определяют в следующих случаях:

- Диагностика дефицита факторов при наследственных или приобретенных состояниях;
- Мониторинг терапии при введении препаратов протромбинового комплекса;
- Детализованный мониторинг при терапии оральных антикоагулянтами;
- Оценка функции печени при различных патологиях.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТА

Состав

Плазма субстратная X приготовлена из свежемороженой донорской плазмы с искусственно сниженной активностью ф. X методом иммуносорбции, с добавлением стабилизатора НЕРЕС буфера, консерванта азида натрия в концентрации 0,05 г/л и лиофильно высушена. Флаконы силиконированы для предотвращения контактной активации.

Плазма субстратная X – 1 мл/флакон - 3 флакона.

Число анализируемых проб биологического материала

Один флакон предназначен для проведения 20 анализов при расходе 50 мкл реагента на один анализ.

Принцип метода.

При добавлении к разведенной исследуемой плазме субстратной дефицитной плазмы происходит коррекция всех факторов свертывания, кроме фактора X. Поэтому время свертывания в тесте протромбинового времени смеси разведенной исследуемой и субстратной плазмы, дефицитной по ф. X зависит только от активности ф. X в исследуемой плазме. Активность ф. X определяют по калибровочному графику разведений плазмы-калибратора с установленной активностью ф. X.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения активности ф. X: билирубин в концентрации до 0,6 г/л, свободный гемоглобин – до 5 г/л, триглицериды – до 6 г/л и нефракционированный гепарин – до 1 МЕ/мл. При превышении указанных концентраций возможно получение ложно заниженных результатов.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения активности ф. X не превышает 10%. Межфлаконная вариация определения активности ф. X не превышает 10%.

Точность

Допустимое отклонение от аттестованного значения при определении активности ф. X в контрольной плазме не превышает 10%.

Линейность

В тесте на «линейность» в диапазоне от 100 до 1% отклонение не более 10%.

Чувствительность

Чувствительность определения ф. X не более 3%.

Значения активности, соответствующие нормальным

Нормальный диапазон значений активности фактора X, полученный при определении активности с помощью реагента Плазма субстратная X у не менее 100 здоровых доноров, составляет 70-120%, что соответствует биологическому референтному интервалу [1].

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагент предназначен для диагностики *in vitro*.

Медицинское изделие (МИ) Плазма субстратная X относится к классу потенциального риска применения 2а, так как это МИ с измерительной функцией, с нефиксированным перечнем выполняемых лабораторных исследований, при применении которого терапевтическое решение должно приниматься после проведения дальнейших исследований, это МИ с умеренным индивидуальным риском и низким риском для обеспокоенного здоровья (Приложение 2 к Приказу МЗ № 4н от 6 июня 2012 г.).

⚠ В состав реагента входит азид натрия, который может вступать в реакцию со свинцом и медью водопроводной системы с образованием потенциально взрывоопасных азидов металлов. В маркировку МИ внесен специальный знак предупреждения.

При работе с реагентом 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).

⚠ При работе с исследуемыми образцами крови пациентов следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, т.к. 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

- Коагулометр любого типа с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная;
- секундомер (для ручного метода);
- термобаня, поддерживающая температуру плюс 37°C (для ручного метода);
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М) или
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- мерный цилиндр;
- Тромбопластин (из головного мозга кролика) для определения протромбинового времени (Ренампластин), номер по каталогу ПГ-5/1;
- Буфер имидазольный концентрированный (Буфер имидазольный), номер по каталогу Р-9;
- вода дистиллированная;
- Плазма с аттестованным значением параметров свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем (МУЛЬТИКАЛИБРАТОР) номер по каталогу КМ-16;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага масштабнo-координатная полулогарифмическая.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Реагент Плазма субстратная X предназначен для определения активности ф. X в венозной плазме крови человека и в препаратах фактора X.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стекляннoй поверхностью.

Процедура получения биологического материала

Получение плазмы венозной крови

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 мин при 3000 об/мин (1200 г). Плазму крови непосредственно после получения или анализируют сразу по методу, описанному ниже, или помещают во флаконы с плотно закрывающимися крышками, замораживают и хранят при температуре не выше минус 20°C. При таких условиях образцы пригодны для анализа в течение 2 месяцев.

Подготовка препарата фактора X для анализа

Препарат фактора X развести согласно инструкции по применению, а затем дополнительно развести до активности примерно 1 МЕ/мл фактора X рабочим раствором имидазольного буфера с добавлением 1% альбумина.

Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемых образцов до анализа - не более 4 ч при комнатной температуре и не более 8 ч при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18-20°C и хранение при этой температуре не более 2 мес.

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, т.к. при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная деградация белковых веществ.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Плазма субстратная X. Во флакон с Плазмой субстратной X внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Время растворения реагента в дистиллированной воде при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C составляет не более трех минут.

Использовать через 20 минут после растворения.

Остальные реагенты приготовить согласно соответствующим инструкциям.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на коагулометре программу для определения активности фактора X одностадийным клоттинговым методом;
- поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки коагулометра;
- запустить программу построения калибровочной прямой (для каждой новой серии реагентов);
- поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра;
- запустить программу измерения;
- считать результаты.

Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре и ручным методом

Построение калибровочного графика

Использовать только пластиковые пробирки. Приготовить следующие разведения Мультикалибратора:

| Пробирка, № | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|-----|------|-------|--------|---------|
| Активность фактора X в Мультикалибраторе, % | A* | 0,5A | 0,25A | 0,125A | 0,0625A |
| Рабочий буферный раствор, мл | 0,9 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Раствор плазмы-калибратора, мл | 0,1 | - | - | - | - |
| Перемешать и перенести в следующую пробирку, мл | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | |

*А – активность фактора XI в Мультикалибраторе, указанная в паспорте на набор.
 Во всех разведениях «Мультикалибратора» провести определение времени свертывания, сек, по методу, описанному ниже, и внести в память полуавтоматического коагулометра для построения калибровочного графика.
 Для ручного метода на масштабном-координатном билогарифмической бумаге построить калибровочный график зависимости времени свертывания, сек, (ось Y) от активности ф. X, % (ось X) в «Мультикалибраторе». График должен представлять собой прямую линию в диапазоне активности фактора II, VII и X от 3 до 100%. Калибровочный график также можно построить, используя программу Microsoft Excel.

Проведение анализа.

Непосредственно перед проведением анализа развести исследуемые образцы рабочим буферным раствором в 10 раз:

| Внести в кювету анализатора: | Объем |
|--|--------|
| Одно из разведений Мультикалибратора (исследуемой) | 50мкл |
| Раствор Плазмы субстратной X | 50мкл |
| Инкубировать при 37°C, точно 2 минуты. | |
| Тромбопластин-кальциевый реагент | 100мкл |

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрируют время от момента добавления тромбопластин-кальциевого реагента до момента образования сгустка.

Для полуавтоматических или автоматических коагулологических анализаторов следует воспользоваться программой Фактор X-тест соответствующего анализатора.
 Для ручного метода, используя калибровочный график и значение времени свертывания исследуемого образца, определить активность ф. X. Образцы исследуемой плазмы с высоким уровнем активности исследуемого фактора необходимо исследовать при разведении исходной плазмы в 20 раз. При этом полученный результат необходимо умножить на 2.

Интерпретация результатов

За единицу активности принимается активность фактора X, содержащегося в пуле донорской плазмы, взятой не менее чем от 300 здоровых доноров мужчин. Активность фактора X выражается в международных единицах (МЕ) или в процентах, причем 1МЕ/мл соответствует 100% активности.

Ограничения метода

Частичная активация коагуляционных факторов из-за нарушений, допущенных при получении исследуемой плазмы, может приводить к ложному завышению результатов.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения активности фактора X следует контролировать с помощью Плазмы контрольной, код КМ-2.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности реагента – 24 месяца. Не использовать реагент после истечения срока годности!

Реагент стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в закупоренном виде при температуре от плюс 2 до плюс 8°C.

Растворенный реагент следует хранить в плотно закупоренном состоянии при температуре от плюс 2 до плюс 8°C не более 8 ч и при температуре от плюс 18 до плюс 25°C не более 4 ч. Растворенный реагент может быть однократно заморожен при температуре от минус 18 до минус 20°C и храниться при этой температуре не более 2 месяцев.

Оттаивать реагент следует при температуре плюс 37°C. Оттаявший реагент следует использовать в течение 2 ч.

Транспортирование реагента должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре от плюс 2 до плюс 8°C.

Допускается транспортирование и хранение реагента при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание реагента допускается.








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 реагентом «Плазма субстратная X» 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. Обеззараживание и утилизация поступивших реагентов происходит на специально оборудованных площадках в соответствии с требованиями, предусмотренными существующими Федеральными законами и с соблюдением обязательных требований по охране окружающей среды.

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 наборы реагентов «Плазма субстратная X», 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 |
|  | Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению |
|  | Температурный диапазон |
|  | Обратитесь к инструкции по применению |
|  | Изготовитель |

ЛИТЕРАТУРА

- Алан, Г.Б. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам / Г.Б. Алан. – М.: Лабора, 2013. – 1280 с.
- Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., «НьюДиамед», 2001.- 285 с.
- Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000.- 360 с.
- А.Л.Берковский, Е.В.Сергеева, А.В.Суворов, А.А.Козлов. Внешний путь свертывания крови. Методы исследования: Методическое руководство - М., 2017. – 70 с.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу:
 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, корп. 2.
 тел./факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru.