

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения активности фибрин-стабилизирующего фактора (фактора XIII) (Фактор XIII-тест) по ТУ 9398-013-05595541-2007»

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения активности фибрин-стабилизирующего фактора (фактора XIII) (Фактор XIII-тест) по ТУ 9398-013-05595541-2007» (сокращенное наименование – «Фактор XIII-тест») предназначено для исследования в плазме крови человека активности фактора XIII ручным методом.

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

Предназначенный пользователь. Определение активности фактора XIII с помощью набора Фактор XIII-тест может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Диагностическая роль. Фактор XIII, присутствующий в плазме в виде проэнзима, конвертируется в активный энзим на конечном этапе свертывающего каскада под действием тромбина в присутствии ионов Ca^{2+} . Активированный фактор XIII действует как трансамидаза, переводя водородные связи между двумя фибрин-мономерами в стабильные пептидные связи. Он создает ϵ -(γ)-глутамил-лизиновые связи между этими мономерами. Эти реакции трансамидирования имеют место между α и γ цепями фибрин мономеров, не затрагивая β -цепи. Фактор XIII, β -глобулин с молекулярной массой 340 кД, содержится в плазме в концентрации 20–30 мг/л и синтезируется печенью. Фибрин стабилизирующая активность, кроме плазмы, найдена также в тромбоцитах и плаценте.

Снижение уровня фактора XIII наблюдается у больных с врожденным дефицитом, а также как вторичный синдром при тяжелых поражениях печени, при сепсисе, лучевой болезни, после тяжелых операций. Клиническая картина дефицита фактора XIII проявляется в тяжелом геморрагическом синдроме, при этом продолжительность кровотечения может достигать 12 – 36 часов.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

- Фибриноген, очищенный от XIII фактора - 2 мл/флакон – 2 флакона,
- Суспензия каолина 1% - 10 мл/флакон – 1 флакон,
- Тромбин человека лиофильно высушенный - 2 мл/флакон – 2 флакона,
- Кальция хлористого 0,1 М раствор - 5 мл/флакон – 1 флакон,
- Буфер имидазоловый концентрированный - 5 мл/флакон – 1 флакон,
- Монохлоруксусная кислота 50% - 7 мл/флакон – 2 флакона,
- Плазма-калибратор, лиофильно высушенная - 1 мл/флакон – 1 флакон.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 40 определений при расходе 0,1 мл тромбин-кальциевой смеси на один анализ.

Принцип метода.

Определение активности фактора XIII основано на оценке лизиса фибринового сгустка, содержащего различное количество исследуемого фактора XIII, в 5% монохлоруксусной кислоте.

МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КАЛИБРАТОРУ

Активность фактора XIII в плазме-калибраторе устанавливаются при аттестации каждой серии против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против пула донорской плазмы, полученного от не менее 100 здоровых доноров обоего пола. Значения активности фактора XIII в плазме-калибраторе указано в паспорте медицинского изделия.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Активность фактора XIII в плазме калибраторе составляет 80 – 120%.

Устойчивость фибринового сгустка в плазме калибраторе – в диапазоне разведения плазмы калибратора (титр) 128 – 512.

Значения активности, соответствующие нормальным

В нормальной плазме здоровых лиц уровень активности фактора XIII составляет 60 – 150%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов Фактор XIII-тест предназначен только для диагностики in vitro. Класс потенциального риска применения набора –2а.

Набор реагентов Фактор XIII-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: СанПиН 2.1.3. 2630-10 от 30.09.2010 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»; СП 3.1.5. 2826 от 11.01.2011 «Профилактика ВИЧ-инфекции».

 При работе 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.

Плазма-калибратор и тромбин с гепарином получены из плазмы крови человека, карантинизированной и проверенной на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg. Тем не менее, эти компоненты набора следует рассматривать как потенциально вирус-опасные.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- термостат, поддерживающий температуру 37±1°C;
- 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 вместимостью 100 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов Фактор XIII-тест предназначен для исследования активности фактора XIII в плазме крови человека. 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°C в течение 15 минут при 3000 об/мин (1200g).

Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 часов при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C и не более 8 часов при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре от минус 18 до минус 20°C и хранение при этой температуре 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 этом происходит частичная деградация белков.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Рабочий буферный раствор. Буфер имидазоловый концентрированный (5 мл) перенести количественно в мерный цилиндр вместимостью 100 мл и долить до метки дистиллированной водой (разведение в 20 раз), тщательно перемешать. Рабочий буферный раствор хранить при температуре +2-8°C не более 1 месяца.

5% монохлоруксусная кислота. Развести содержимое флакона в 10 раз дистиллированной водой (1:9). Содержимое флакона перенести в мерный цилиндр и довести дистиллированной водой до 70 мл. Хранить при 2-8°C в течение 1 месяца.

Суспензия каолина, 1%. Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед проведением анализа встряхивать. Хранить при 2-8°C в течение 1 месяца.

Раствор фибриногена. Внести во флакон с лиофильно высушенным фибриногеном 2 мл дистиллированной воды и растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

Кальция хлористого 0,1 М раствор. Является готовым реагентом для приготовления тромбин-кальциевой смеси.

Тромбин-кальциевая смесь. Внести во флакон с тромбином 2 мл 0,1 М раствора кальция хлорида и растворить при осторожном покачивании. Смесь готова к проведению анализа через 20 минут после разведения.

Плазма-калибратор. Внести во флакон с плазмой-калибратором 1мл дистиллированной воды и растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

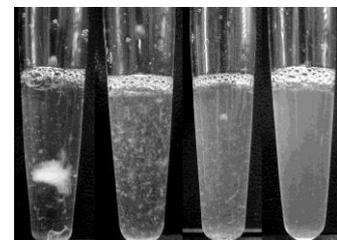
Плазма-калибратор и исследуемые образцы плазмы последовательно развести рабочим буферным раствором в 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 и 512 раз.

Проведение анализа

Внести в пробирку:	Объем
Одно из разведений плазмы-калибратора (исследуемой), мкл	100
Раствор фибриногена, мкл	100
Суспензия каолина, мкл	100
Тромбин-кальциевая смесь, мкл	100
Смесь инкубировать при 37°C 30 минут.	
5% монохлоруксусная кислота, мл	3
Инкубировать 5 минут при 37°C. Встряхнуть каждую пробирку.	

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Зафиксировать то наименьшее разведение плазмы-калибратора и исследуемой плазмы, при котором фибриновый сгусток после инкубации с монохлор-уксусной кислотой разрушается на мелкие фибриновые нити (см.рисунок).



РАСЧЕТЫ

Наименьшее разведение плазмы-калибратора, при котором фибриновый сгусток после инкубации с монохлоруксусной кислотой разрушается на мелкие фибриновые нити, обычно составляет 1:128 – 1:256. Уровень фактора XIII необходимо рассчитать по

$$\text{формуле: } A_{пл} = \frac{T_{пл}}{T_k} \times A_k, \text{ где:}$$

$A_{пл}$ - активность фактора XIII в исследуемой плазме в %;

A_k - активность фактора XIII в плазме-калибраторе в % (указано в паспорте);

$T_{пл}$ – титр исследуемой плазмы;

T_k – титр плазмы-калибратора.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения активности фактора XIII следует контролировать с помощью реагента «Плазма контрольная по ТУ 9398-026-05595541-2009», номер по каталогу производителя КМ-2.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 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°C. Допускается хранение при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание наборов не допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат!

Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укупоренном состоянии.

Стабильность приготовленных реагентов.

Реагенты/срок хранения	Температура хранения, °С, в диапазоне		
	+2-8°C	+18-22°C	-18-20°C
Раствор фибриногена	8 часов	4 часа	-
Тромбин-кальциевая смесь	8 часов	4 часа	2 месяца
Раствор плазмы-калибратора	8 часов	4 часа	2 месяца

Транспортирование наборов должно осуществляться при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов в соответствии с правилами перевозок, действующими на данном виде транспорта. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора Фактор XIII-тест требованиям Технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» отходы от работы с набором Фактор XIII-тест 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.

Наборы реагентов Фактор XIII-тест, 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
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель

ЛИТЕРАТУРА И НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

1. Алан, Г.Б. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам / Г.Б. Алан. – М.: Лабор, 2013. – 1280 с.
2. Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушения гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 292 с.
3. 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.
4. ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
5. ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
6. 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 (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru