



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения активности фактора IX свертывания крови (Фактор IX-тест) по ТУ 9398-021-05595541-2009»

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения активности фактора IX свертывания крови (Фактор IX-тест) по ТУ 9398-021-05595541-2009» (сокращенное наименование – Фактор IX-тест) предназначено для определения активности фактора IX (ф. IX) в плазме крови человека одностадийным клоттинговым методом. Фактор IX-тест предназначен для работы ручным методом, а также на автоматических и полуавтоматических коагулометрах, способных регистрировать образование сгустка в присутствии каолина.

Предназначенный пользователь. Определение активности фактора IX может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Область применения. Область применения набора – клиническая медицина, клиническая лабораторная диагностика, контроль качества в трансфузиологии.

Диагностическая роль. Определение активности фактора IX проводят с целью диагностики гемофилии В и для контроля за достаточностью заместительной терапии при гемофилии В, для диагностики тромбофилии, связанной с повышенной активностью фактора IX, а также для определения качества антигемофильных препаратов.

Научная обоснованность теста. Фактор IX в своей активной форме IXa в присутствии кофактора VIIIa активирует фактор X в теназном комплексе. Суммарная активность этих факторов влияет на значение теста АЧТВ. Использование субстратной плазмы, дефицитной по фактору IX, позволяет вычлнить и определить его активность.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

Эрилид, лиофильно высушенный аналог кефалина, - 1 флакон;
Каолин, суспензия в 0,9%-ом растворе натрия хлористого – 5,0 мл/флакон – 1 флакон;
0,025М раствор кальция хлористого - 5,0 мл/флакон – 1 флакон;
Плазма субстратная IX, лиофильно высушенная 1,0 мл/флакон - 1 флакон;
Плазма-калибратор лиофильно высушенная 1,0 мл/флакон - 1 флакон;
Буфер имидазоловый концентрированный – 5,0 мл/флакон – 1 флакон.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор 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 ф. IX. Поэтому время свертывания в тесте АЧТВ смеси разведенной исследуемой и субстратной дефицитной по ф. IX плазм зависит только от активности ф. IX в исследуемой плазме. Активность ф. IX определяют по калибровочному графику разведений плазмы-калибратора с установленной активностью ф. IX.

МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КАЛИБРАТОРУ

Активность ф. IX в плазме-калибраторе устанавливают при аттестации каждой серии против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против пула донорской плазмы, взятой от не менее 100 здоровых доноров обоего пола, активность фактора IX в котором принята за 100%.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения активности ф. IX: 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.

Точность

Активность ф. IX в плазме-калибраторе с аттестованным значением в нормальной области в пределах 80 – 110 %. Точное значение активности фактора IX в плазме-калибраторе указано в паспорте на каждую серию наборов.

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

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения активности ф. IX не превышает 10%. Допустимый разброс результатов при определении активности ф. VIII в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии, не превышает 10%.

Линейность

В тесте на «линейность» в диапазоне от 100 до 2% отклонение не более 10%.

Чувствительность

Чувствительность определения ф. IX не более 1,5%.

Значения, соответствующие нормальным

В норме в плазме крови человека активность фактора IX составляет 50 – 150%.

Ограничения метода

Клиническая диагностика не должна основываться только на результатах определения активности фактора IX набором Фактор IX-тест. При постановке диагноза должны быть рассмотрены клинические симптомы и другая значимая тестовая информация.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор Фактор IX-тест предназначен для диагностики in vitro. Класс потенциального риска применения набора - 2а.

Набор реагентов АЧТВ-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 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).

Плазма-калибратор и плазма субстратная IX получены из плазмы крови человека, карантинизированной и проверенной на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HbSAg. Тем не менее, не следует исключать остаточного минимального риска при работе с набором, поскольку плазма крови человека является потенциально опасным биологическим материалом.

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, способный регистрировать образование сгустка в присутствии каолина 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;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага масштабнo-координатная полулогарифмическая.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор Фактор IX-тест предназначен для определения активности ф. IX в венозной плазме крови человека и в лечебных препаратах фактора IX.

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 плюс (18-25)°С в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g).

Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы 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 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, т.к. при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная деградация белковых веществ.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Рабочий буферный раствор. Буфер имидазоловый концентрированный развести в 20 раз (содержание флакона перенести в мерный цилиндр, довести до 100 мл дистиллированной водой и тщательно перемешать).

Кефалин-каолиновая смесь. Внести во флакон с эрилидом (кефалином) суспензию каолина. Кефалин-каолиновая смесь готова к проведению анализа через 30 минут после добавления каолина. Перед проведением анализа встряхивать.

Плазма субстратная IX. Во флакон с Плазмой субстратной IX 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.

Плазма-калибратор. Во флакон с плазмой-калибратором внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Использовать через 20 минут после растворения.

Кальция хлорида 0,025 М раствор. Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при плюс 37°C. Повторное прогревание вскрытого флакона не рекомендуется.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Подготовка исследуемых образцов для анализа

Приготовление плазмы пациента

Учитывая, что содержание ф. IX в исследуемой плазме пациента может быть, как низким (гемофилия), так и повышенным (тромбофилия), исследуемый образец плазмы пациента рекомендуется сначала развести рабочим буферным раствором в 5 раз и определить по калибровочному графику активность ф. IX по методу, описанному ниже. Если активность ф. IX более высокая и не удается по графику определить активность, исследуемый образец следует развести в 10 или в 20 раз рабочим буферным раствором по схеме:

Ожидаемая актив-ность ф IX в %	Разведе-ние в раз	Объем плазмы мл	Объем буфера мл	Кoeffи-циент К
Больше 150	20	0,1	1,9	4
От 50 до 150	10	0,1	0,9	2
Меньше 50	5	0,1	0,4	1

Приготовление образца препарата фактора IX

Препарат фактора IX развести и проанализировать согласно фармакопейной статье на препарат.

Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на коагулометре программу для определения активности фактора IX 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 Плазмы-калибратора:

Пробирка, №	1	2	3	4	5	6
Активность фактора IX в Плазме-калибраторе, %	A*	0,5A	0,25A	0,125A	0,0625A	0,01A
Рабочий буферный раствор, мл	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Раствор плазмы-калибратора, мл	0,2	-	-	-	-	-
Перемешать и перенести в следующую пробирку, мл						

*А – активность фактора IX в Плазме-калибраторе, указанная в паспорте на набор.

Во всех разведениях Плазмы-калибратора провести определение времени свертывания, сек, по методу, описанному ниже, и внести в память полуавтоматического коагулометра для построения калибровочного графика.

Для ручного метода на масштабно-координатной полулогарифмической бумаге построить калибровочный график зависимости времени свертывания, сек, (ось Y) от активности ф. IX, % (ось X) в Плазме-калибраторе. График должен представлять собой прямую линию. Калибровочный график также можно построить, используя программу Microsoft Excel.

Проведение анализа

Внести в кювету анализатора или пробирку:	Объем
Одно из разведений плазмы-калибратора (исследуемой плазмы)	50мкл
Раствор плазмы субстратной дефицитной	50мкл
Кефалин-каолиновая смесь	50мкл
Инкубировать при 37°C, точно 3 минуты.	
Кальция хлорида 0,025 М раствор	50 мкл

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрируют время от момента добавления кальция хлорида до момента образования сгустка.

Для полуавтоматических или автоматических коагулологических анализаторов следует воспользоваться программой Фактор IX-тест соответствующего анализатора.

Для ручного метода, используя калибровочный график и значение времени свертывания исследуемого образца, определить активность ф. IX. Полученное значение следует умножить на коэффициент разведения К, соответствующий разведению исследуемого образца.

Интерпретация результатов

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

Уровень активности фактора IX в плазме в норме и патологии.

Активность фактора IX в %	Заблевание
Больше 150	Почечная недостаточность Диабет Тромбофилическое состояние Прием гормональных контрацептивов
От 50 до 150	Норма
От 25 до 49	Гемофилия В, скрытая форма
От 5 до 24	Гемофилия В, легкая форма
От 1 до 5	Гемофилия В средней тяжести
Меньше 1	Гемофилия В, тяжелая форма

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения активности фактора IX в плазме пациентов следует контролировать с помощью Плазмы контрольной, код КМ-2.

Мультикалибратор, код КМ-16 может быть использован для построения калибровочного графика.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора Фактор IX-тест – 24 месяца. Не использовать набор после истечения срока годности!

Набор стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в укупоренном виде при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается хранение набора при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание набора не допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат!

Растворенные реагенты следует хранить в плотно укупоренном состоянии

Стабильность приготовленных реагентов

Реагенты	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C
Кефалин-каолиновая смесь	14 суток	1 сутки	2 месяца
Раствор плазмы-калибратора	8 часов	4 часа	2 месяца
Раствор плазмы субстратной дефицитной	8 часов	4 часа	2 месяца
Рабочий буферный раствор	1 месяц	5 суток	-

Раствор кальция хлорида стабилен при комнатной температуре в течение всего срока хранения.

Оттаивать замороженные реагенты следует при температуре плюс 37°C. Оттаявшие реагенты следует использовать в течение 2 ч.

Транспортирование набора Фактор IX-тест 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 набора при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание набора не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

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 набором Фактор IX-тест с использованием образцов плазмы крови пациентов и наборы с истекшим сроком хранения 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. Вывоз отходов класса Б для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Б осуществляется в соответствии с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к порядку накопления, транспортирования, обезвреживания и захоронения токсичных промышленных отходов. Отходы рабочего буферного раствора относятся к отходам класса А.

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

Дата утверждения инструкции 20 апреля 2009 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., «НьюДиамед», 2001. - 285 с.
2. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000. - 360 с.
3. Г.А.Ярлова, Е.А.Нешкова, А.Л.Берковский, Е.В.Сергеева, А.В.Суворов, А.Л.Мелкумян. Внутренний путь свертывания крови : учебно-методическое пособие - М.: ФГБОУ ДПО РМАПО, 2017. – 83 с.
4. Turi DC, and Peerschke EI. Sensitivity of Three Activated Partial Thromboplastin Time Reagents to Coagulation Factor Deficiencies. Am J. Clin. Pathol. 1986; 85:43-49.

ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

- 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.
- ГОСТ ISO 17511-2011 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, присписанных калибраторам и контрольным материалам.
- ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
- ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ЕН 13612-2010 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ЕН 13641-2010 Устранение или снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
- ГОСТ Р ИСО18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация. Предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
- ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- 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» МБОУ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2. Тел (804)333-22-61, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru, сайт www.renam.ru