

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Плазма субстратная, дефицитная по фактору II (Плазма субстратная II) по ТУ 9398-005-05595541-2012»

### НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* «Плазма субстратная, дефицитная по фактору II (Плазма субстратная II) по ТУ 9398-005-05595541-2012» (далее по тексту – Плазма субстратная II) предназначено для определения в плазме крови человека активности фактора II (ф. II) одностадийным клоттинговым методом.

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

**Диагностическая роль.** Активности коагуляционного фактора II 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 оральными антикоагулянтами;
- Оценка функции печени при различных патологиях.

**Область применения.** Область применения набора – клиническая медицина, клиническая лабораторная диагностика, научно-исследовательская практика.

### НАУЧНАЯ ОБСНОВАННОСТЬ АНАЛИТА

Протромбин (фактор свертывания II), является одним из главных компонентов свертывающей системы крови. Протромбин – витамин-К-зависимый гликопротеин, синтезируемый в печени и циркулирующий в крови в неактивной форме. При недостатке витамина К уровень протромбина в крови уменьшается, что может приводить к кровотечениям.

Протромбин активируется в тромбин комплексом фосфолипидов, ионов кальция, фактора Va и фактора Ха.

### ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТА

#### Состав

Плазма субстратная II получена из донорской плазмы методом иммунной адсорбции, стабилизирована HEPES буфером и лиофильно высушена.

Плазма субстратная II, с активностью ф. II менее 1%, лиофильно высушенная, объем после восстановления 1,0 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 II. Поэтому время свертывания в тесте протромбиновое время смеси разведенной исследуемой и субстратной плазмы, дефицитной по ф. II зависит только от активности ф. II в исследуемой плазме. Активность ф. II определяют по калибровочному графику разведений плазмы-калибратора с установленной активностью ф. II.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### Специфичность

Применение сорбента с моноклональными антителами к фактору II для получения субстратной плазмы позволяет избирательно сорбировать из человеческой донорской плазмы только фактор II, оставляя активность остальных факторов в нормальной области. Это дает возможность с помощью субстратной плазмы II определять активность в плазме пациентов именно фактор II.

**Точность.** Активность ф. II в контрольной плазме - в пределах 70-120%.

**Чувствительность.** Чувствительность определения ф. II не более 3%.

**Линейность.** В тесте на «линейность» в диапазоне от 3 до 100% отклонение не более 10%.

**Воспроизводимость.** Коэффициент вариации результатов определения активности ф. II не превышает 10%. Межфлаконная вариация определения активности ф. II не превышает 10%.

Допустимый разброс результатов при параллельном определении активности ф. II в одной пробе контрольной нормальной плазмы при использовании разных комплектов реагента Плазма субстратная II одной серии не превышает 10%.

#### Значения активности, соответствующие нормальным

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

#### Ограничения метода

Клиническая диагностика не должна основываться только на результатах определения активности ф. X. При постановке диагноза должны быть рассмотрены клинические симптомы и другая значимая тестовая информация.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагент предназначен для диагностики *in vitro*. Медицинское изделие (МИ) Плазма субстратная II относится к классу потенциального риска применения 1. 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).

⚠ Плазма субстратная II получена 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 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;
  - Реагент для определения протромбинового времени клоттинговым методом (Ренампластин) по ТУ 21.20.23-066-05595541-2019, номер по каталогу ПГ-5/1;
  - Буфер имидазоловый концентрированный (Буфер имидазоловый) по ТУ 9398-035-05595541-2011, номер по каталогу Р-9;
  - вода дистиллированная;
  - Плазма с аттестованным значением параметров свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем (МУЛЬТИКАЛИБРАТОР) по ТУ 9398-051-05595541-2014, номер по каталогу КМ-16;
  - перчатки медицинские диагностические одноразовые;
  - бумага масштабно-координатная полулогарифмическая.
- \* Плазма субстратная II совместима со всеми типами анализаторов, предназначенных для коагулологических исследований.

### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

#### Вид анализируемого биологического материала

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

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной 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 g). 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 II для анализа

Препарат фактора X развести согласно инструкции по применению, а затем дополнительно развести до активности примерно 1 МЕ/мл фактора II рабочим раствором имидазолового 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 II.** Во флакон с Плазмой субстратной II 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 II 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 II 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 II 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 масштабнo-координационной билогарифмической бумаге построить калибровочный график зависимости времени свертывания, сек, (ось Y) от активности ф. II, % (ось X) в «Мультикалибраторе». График должен представлять собой прямую линию в диапазоне активности фактора II 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 плазмы)	50мкл
Раствор Плазмы субстратной II	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 II-тест соответствующего анализатора.

Для ручного метода, используя калибровочный график и значение времени свертывания исследуемого образца, определить активность ф. II. 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 II, содержащегося в пуле донорской плазмы, взятой не менее чем от 300 здоровых доноров мужчин. Активность фактора II 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 II следует контролировать с помощью «Реагента для контроля правильности определения параметров свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем (Плазма контрольная) по ТУ 9398-026-05595541-2009» номер по каталогу КМ-2 производства МБООИ «Общество больных гемофилией».

#### 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 II» 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.

Вывоз отходов класса Б 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.

#### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

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

Хранение реагент в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в течение всего срока годности реагента. Допускается хранение при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание реагента допускается.

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.

#### 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 марта 2012 г.

#### ЛИТЕРАТУРА

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

#### 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 Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- 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 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 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции.
- ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия.
- 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.
- 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, корп. 2.  
Тел (804) 333-22-61, (495) 225-12-61, e-mail: [info@renam.ru](mailto:info@renam.ru), сайт [www.renam.ru](http://www.renam.ru)