



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинских изделий для диагностики in vitro «Плазма субстратная, дефицитная по фактору VII (Плазма субстратная VII) по ТУ 9398-044-05595541-2012

НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие для диагностики in vitro Плазма субстратная VII предназначено для определения активности фактора VII свертывания крови в плазме крови пациентов и препаратах факторов свертывания одностадийным клоттинговым методом с целью:

- Диагностики дефицита фактора при наследственных или приобретенных состояниях;
- Мониторинг терапии при введении препаратов протромбинового комплекса;
- Детализованный мониторинг при терапии оральными антикоагулянтами;
- Оценка функции печени при различных патологиях.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТОВ

Состав

Плазмы субстратные, дефицитные, активность фактора VII в которых составляет менее 1 %, а активность остальных факторов свертывания в норме, получена из пула нормальной донорской плазмы методом иммуноадсорбции, стабилизирована НЕРЕС буфером и лиофильно высушена.

Флаконы силиконированы для предотвращения контактной активации.

Плазма субстратная VII лиофильно высушенная – 1 мл/флакон – 3 шт./набор

Число анализируемых проб биологического материала

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

Принцип метода.

Время свертывания в тесте протромбиновое время смеси разведенной исследуемой и субстратной плазмы, дефицитной по одному из факторов II, VII или X зависит только от активности соответствующего фактора в исследуемой плазме. При добавлении к разведенной исследуемой плазме субстратной дефицитной плазмы происходит коррекция всех факторов свертывания кроме исследуемого фактора (II, VII или X). Активность факторов II, VII или X определяют по калибровочному графику разведений плазмы-калибратора с установленной активностью этих факторов.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения активности факторов II, VII и X не превышает 10%. Межфлаконная вариация определения активности факторов II, VII и X не превышает 10%.

Точность

Допустимое отклонение от аттестованного значения при определении активности факторов II, VII и 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 активности факторов II, VII и X в контрольной нормальной плазме не превышает 3%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагенты предназначены для диагностики in vitro.

Медицинские изделия Плазма субстратная II, Плазма субстратная VII и 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 общественного 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°С (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 Ренампластин (код ПГ-5/1);
- Буфер имидазольный (код Р-7);
- вода дистиллированная;
- Плазма с аттестованным значением параметров свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем (МУЛЬТИКАЛИБРАТОР) (код КМ-16);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага масштаб-координатная полулогарифмическая.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Плазма субстратная VII предназначена для определения активности фактора VII в венозной плазме крови человека и в лечебных препаратах факторов свертывания.

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 25°С в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Плазму крови непосредственно после получения или анализируют сразу по методу, описанному ниже.

Подготовка образца препарата фактора свертывания для анализа

Образец фактора свертывания приготовить в соответствии с требованиями фармакопейной статьи. Использовать для анализов не позднее 1 ч после приготовления.

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°С. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18-20°С и хранение при этой температуре не более 2 мес.

Растворы СЗП и криопреципитата хранению не подлежат.

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 денатурация белковых веществ.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приготовление Плазмы субстратной VII.

Внести во флакон с плазмой субстратной VII 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор плазмы нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20 минут.

Остальные реагенты приготовить согласно соответствующим инструкциям.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на коагулометре программу для определения активности фактора II или VII или 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 и использование калибровочного графика.

Использовать только пластиковые пробирки. Приготовить следующие разведения Мультикалибратора:

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

*A – активность фактора II, VII или X в Мультикалибраторе, указанная в паспорте на реагент.

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 У) от активности ф. VIII, %, (ось Х) в «Мультикалибраторе». График должен представлять собой прямую линию. Калибровочный график также можно построить, используя программу Microsoft Excel.

Проведение анализа.

Непосредственно перед проведением анализа развести исследуемую плазму рабочим буферным раствором в 10 раз:

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

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

Для полуавтоматических или автоматических коагулологических анализаторов следует воспользоваться программой определения факторов свертывания соответствующего анализатора.

Для ручного метода, используя калибровочный график и значение времени свертывания исследуемого образца, определить активность факторов II, VII или X. Образцы исследуемой плазмы с высоким уровнем активности исследуемых факторов 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, содержащегося в пуле донорской плазмы, взятой не менее чем от 300 здоровых доноров мужчин. Активность факторов выражается в международных единицах (МЕ) или в процентах, причем 1МЕ/мл соответствует 100% активности.

Значения, соответствующие нормальным

VII фактор 70 - 120%;

Ограничения метода

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

Присутствие волчаночного антикоагулянта в исследуемых образцах плазмы может влиять на результаты определения активности факторов II, VII или X.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Проверку правильности построения калибровочных прямых с использованием плазм-калибраторов, необходимо осуществлять с помощью контрольных материалов, выпускаемых фирмой НПО РЕНАМ. Плазма контрольная анализируется одновременно с исследуемой плазмой больного при выполнении соответствующего теста. Исследуемый контрольный материал должен укладываться в диапазон значений, указанных в паспорте на данную серию плазмы контрольной

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

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

Плазмы субстратные стабильны в течение всего срока годности при условии хранения в укупоренном виде при температуре плюс (2-8)°С.

Приготовленные растворы субстратных плазм можно хранить во флаконе изготовителя:

- не более 4 часов при температуре от плюс 2 до плюс 8°С
 - не более 2 часов при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°С.
- Растворенные плазмы субстратные могут быть однократно заморожены при температуре от минус 18 до минус 20°С и храниться при этой температуре не более 2 месяцев.

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

Транспортирование реагентов 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°С.

Допускается транспортирование и хранение реагента при температуре до плюс 25°С 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 VII 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 набор реагентов Плазма субстратная VII, 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

Дата утверждения инструкции 20 марта 2012 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. Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.В., Козлов А.А. Внешний путь свертывания крови. Методы исследования - М.: 2017. – 70 с.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125167, г. Москва, Нарышкинская аллея, д. 5, стр. 2.
тел/факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru.