

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 в плазме крови человека активности фактора X (ф. X) одностадийным клоттинговым методом.

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 оральными антикоагулянтами;
- Оценка функции печени при различных патологиях.

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

НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ АНАЛИТА

Фактор свёртывания крови X (фактор Стюарта—Прауэра) - γ -глобулин, синтезируемый в печени. Является витамин K зависимым фактором. Под воздействием теназного комплекса (Ca^{2+} , ф.VIIIa и ф.IXa по внутреннему пути) или под воздействием комплекса тканевого фактора и ф.VIIa (TF-VIIa, по внешнему пути) он переходит в активную форму ф.Xa. В свою очередь ф.Xa является компонентом протромбиназного комплекса (Ca^{2+} , ф.Xa, ф.Va), трансформирующего протромбин в основную протеазу коагуляционного каскада - тромбин.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТА**Состав**

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

Плазма субстратная X, с активностью ф.X 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 X. Поэтому время свертывания в тесте протромбиновое время 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**

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

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

Чувствительность. Чувствительность определения ф.X 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.X не превышает 10%. Межфлаконная вариация определения активности ф.X не превышает 10%.

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

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].

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 X 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 X 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 X совместима со всеми типами анализаторов, предназначенных для коагулологических исследований.

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 стекляннной 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 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 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 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	

*A – активность фактора X 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. X, % (ось X) в «Мультикалибраторе». График должен представлять собой прямую линию в диапазоне активности фактора 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 плазмы)	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 «Реагента для контроля правильности определения параметров свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем (Плазма контрольная) по ТУ 9398-026-05595541-2009» номер по каталогу KM-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 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.

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.

ПРЕЗЕНТОВАНИЕ 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 ИСО 18113-2-2015 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, сайт www.renam.ru