

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Плазма субстратная, дефицитная по фактору XI (Плазма субстратная XI) по ТУ 9398-042-05595541-2012»

### НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* «Плазма субстратная, дефицитная по фактору XI (Плазма субстратная XI) по ТУ 9398-042-05595541-2012» (далее по тексту – Плазма субстратная XI) предназначено для определения активности фактора XI (ф. XI) свертывания крови в плазме крови пациентов и в свежемороженой донорской плазме (СЗП) одностадийным клоттинговым методом.

**Область применения.** Область применения реагента – клиническая медицина, клиническая лабораторная диагностика.

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

**Диагностическая роль.** Определение активности фактора XI проводят с целью выяснения причины удлинения активированного частичного тромбопластинового времени; диагностики дефицита факторов при наследственных (гемофилия С) или приобретенных состояниях; а также дифференцирования между диспротеинемией и синтезом неактивных факторов свертывания.

Реагент предназначен для работы ручным методом, а также на всех типах автоматических и полуавтоматических коагулометров.

### ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТА

#### Состав

Плазма субстратная XI приготовлена из свежемороженой донорской плазмы с искусственно сниженной активностью ф. XI, с добавлением стабилизатора и консерванта азида натрия в концентрации 0,05 г/л, лиофильно высушена - 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 ф. XI. Поэтому время свертывания в тесте АЧТВ смеси разведенной исследуемой и субстратной дефицитной по ф. XI плазм зависит только от активности ф. XI в исследуемой плазме. Активность ф. XI определяют по калибровочному графику разведенной плазмы-калибратора с установленной активностью ф. XI.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### Специфичность

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

#### Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения активности ф. XI не превышает 10%. Межфлаконная вариация определения активности ф. XI не превышает 10%.

#### Точность

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

#### Линейность

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

#### Чувствительность

Чувствительность определения ф. XI не более 3%.

#### Значения активности, соответствующие нормальным

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

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

⚠ 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°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;
- набор для определения АЧТВ (Набор реагентов для определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ-тест) или Набор реагентов для выполнения коагуляционных тестов (Коагуло-тест);
- Буфер имидазоловый концентрированный (Буфер имидазоловый);
- вода дистиллированная;
- Плазма с аттестованным значением параметров свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем (МУЛЬТИКАЛИБРАТОР);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- бумага масштабно-координатная полулогарифмическая.

### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

#### Вид анализируемого биологического материала

Реагент «Плазма субстратная XI» предназначен для определения активности ф. XI в венозной плазме крови человека и в СЗП.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью. Образцы СЗП должны иметь вид прозрачной жидкости желтоватого цвета.

#### 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)°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 СЗП для анализа

Образец СЗП разморозить, поместив мешок в водяную баню при температуре не выше плюс 37°C. Через 5-7 минут СЗП должна полностью растаять и приобрести вид прозрачного раствора желтоватого цвета. Для проведения анализа требуется 0,5 мл СЗП. Использовать СЗП для анализов не позднее 1 ч после оттаивания.

##### 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 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 деградация белковых веществ.

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Плазма субстратная XI.** Во флакон с Плазмой субстратной XI внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Время растворения реагента в дистиллированной воде при комнатной температуре плюс (18-25°C) составляет не более трех минут. Использовать через 20 минут после растворения.

Остальные реагенты приготовить согласно соответствующим инструкциям.

### ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

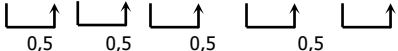
#### Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на коагулометре программу для определения активности фактора XI одностадийным клоттинговым методом;
- поместить флаконы с подготовленными 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	6
Активность фактора XI в Мультикалибраторе, %	A*	0,5A	0,25 A	0,125A	0,0625 A	0,01 A
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						

\*A – активность фактора XI 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 масштабно-координатной полулогарифмической бумаге построить калибровочный график зависимости времени свертывания, сек, (ось Y) от активности ф. XI, % (ось X) в «Мультикалибраторе». График должен представлять собой прямую линию.

Калибровочный график также можно построить, используя программу Microsoft Excel.

### Подготовка исследуемых образцов для анализа

#### Приготовление плазмы пациента

Учитывая, что содержание ф. XI в исследуемой плазме пациента может быть, как низким (гемофилия C), так и повышенным, исследуемый образец плазмы пациента рекомендуется сначала развести рабочим буферным раствором в 5 раз и определить по калибровочному графику активность ф. XI по методу, описанному ниже. Если активность ф. XI более высокая и не удается по графику определить активность, исследуемый образец следует развести в 10 рабочим буферным раствором (0,1 мл плазмы + 0,9 мл рабочего буферного раствора) определить по калибровочному графику активность ф. XI по методу, описанному ниже и полученный результат умножить на 2.

#### Приготовление образца СЗП

После размораживания СЗП развести буферным раствором в 5 и 10 раз. Определить активность ф. XI одностадийным клоттинговым методом, описанным ниже. Полученное значение следует умножить на коэффициент разведения K, соответствующий разведению исследуемого образца. Коэффициент разведения K для разведения в 5 раз – 1, в 10 раз – 2.

### Проведение анализа

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

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

### Интерпретация результатов

За единицу активности принимается активность фактора XI, содержащегося в пуле донорской плазмы, взятой не менее чем от 300 здоровых доноров мужчин. Активность фактора XI 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.

Присутствие волчаночного антикоагулянта в исследуемых образцах плазмы может влиять на результаты определения активности факторов XI или XII.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения активности фактора XI следует контролировать с помощью Плазмы контрольной, код КМ-2.

## УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

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

Реагент стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в укрупненном виде при температуре плюс (2-8)°C.

Растворенный реагент следует хранить в плотно закупоренном состоянии при температуре плюс (2-8)°C не более 8 ч и при температуре плюс (18-25)°C не более 4 ч. Растворенный реагент может быть однократно заморожен при температуре минус (18-20)°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 плюс (2-8)°C.

Допускается транспортирование и хранение реагента при температуре до плюс 25°C 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 XI» 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 наборы реагентов «Плазма субстратная XI», 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

- Алан, Г.Б. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам / Г.Б. Алан. – М.: Лабора, 2013. – 1280 с.
- Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., «Ньюдиамед», 2001. – 285 с.
- Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000. – 360 с.
- Г.А.Яровая, Е.А.Нешкова, А.Л.Берковский, Е.В.Серегеева, А.В.Суворов, А.Л.Мелкумян. Внутренний путь свертывания крови : учебно-методическое пособие - М.: ФГБОУ ДПО РМАПО, 2017. – 83 с.
- 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.

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](mailto:info@renam.ru).