Плазма субстратная II Код КМ-11

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.

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

НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ 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 Xa.

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.II. 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°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 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°С 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°С. При таких условиях образцы пригодны для анализа в течение 2 месяцев.

Подготовка препарата фактора II для анализа

Препарат фактора II 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°С. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 18-20°С 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°С 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 масштабно-координационной билогарифмической бумаге построить калибровочный график зависимости времени свертывания, сек, (ось У) от активности ф. II, %, (ось Х) 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°С, 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°С в течение всего срока годности реагента. Допускается хранение при температуре до плюс 25°С не более 10 суток. Замораживание реагента допускается.

Растворенный реагент следует хранить в плотно укупоренном состоянии при температуре от плюс 2 до плюс 8°С не более 8 ч и при температуре от плюс 18 до плюс 25°С не более 4 ч. Растворенный реагент может быть однократно заморожен при температуре от минус 18 до минус 20°С и храниться при этой температуре не более 2 месяцев. Оттаивать реагент следует при температуре плюс 37°С. 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°С.

Допускается транспортирование и хранение реагента при температуре до плюс 25°С 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 ин витро. 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, сайт www.renam.ru