



УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО фирмы
«Технология-Стандарт»

А.П. Момот
2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности фактора VIII в плазме крови (Тех-Фактор VIII-тест)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения активности фактора VIII в плазме крови (Тех-Фактор VIII-тест) предназначен для определения активности коагуляционного фактора VIII (FVIII) в плазме крови. Определение фактора VIII используется для диагностики гемофилии А, контроля заместительной терапии больных гемофилией А концентратами FVIII, а также для диагностики тромбофилии, обусловленной повышенным уровнем коагуляционного фактора VIII.

Набор предназначен только для профессионального использования специалистами в области лабораторной диагностики: заведующими лабораториями, врачами КЛД, врачами-лаборантами, медицинскими лабораторными техниками (фельдшер-лаборант), лаборантами, медицинскими технологами.

Область применения набора: клиническая лабораторная диагностика, клиническая медицина.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Определяют время свертывания смеси, содержащей дефицитную по фактору VIII плазму, разведенную исследуемую плазму и АПТВ-реагент в присутствии ионов кальция. Количественное определение активности коагуляционного фактора VIII выполняют по графику зависимости активности FVIII (в %) от времени свертывания.

Состав набора:

1. Дефицитная по фактору VIII плазма (лиофильно высушенная, полученная методом иммуносорбции), на 2 мл - 1 фл.

2. Плазма-калибратор (лиофильно высушенная), на 1 мл - 1 фл.
3. АПТВ-реагент (раствор, содержащий фосфолипиды, эллаговую кислоту, буфер и стабилизаторы), 2,5 мл - 1 фл.
4. Кальция хлорид (0,277 %, 0,025 М раствор), 10 мл - 1 фл.
5. Буфер трис-HCl (концентрированный 20:1 раствор, 1 М, pH 7,4), 5 мл - 1 фл.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Чувствительность – не более 1 %.

Линейность определения активности фактора VIII - в диапазоне от 1 до 100 %, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Тест на «открытие» – не более 10 % отклонения.

Коэффициент вариации результатов определения активности фактора VIII – не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения активности фактора VIII в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии – не более 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Набор реагентов используется только для применения *in vitro*.

Реагенты, входящие в состав набора, в используемых концентрациях не токсичны.

Набор не содержит антитела к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- Коагулометр (при отсутствии коагулометра - секундомер, водяная баня на +37 °С);

- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные вместимостью 0,1, 0,5 и 0,2-1,0 мл;
- мерный цилиндр на 100 мл;
- пробирки;
- вода дистиллированная;
- контрольная плазма с нормальным диапазоном значений («Тех-контроль Н», кат. № 776, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- контрольная плазма с патологическим диапазоном значений («Тех-контроль П», кат. № 777, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы крови на исследование - сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 4 ч назад, а также замороженной плазмы крови. Для данного анализа не рекомендуется хранение образцов биологического материала при температуре +2... +8 °C в связи с возможностью холодовой активации факторов свертывания.

При определении активности коагуляционного фактора VIII с использованием полуавтоматических коагулометров или в мануальном варианте методики перед проведением анализа все исследуемые образцы плазмы развести рабочим раствором буфера трис-HCl в 5 раз (0,1 мл образца + 0,4 мл рабочего раствора буфера трис-HCl).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Разведение дефицитной по фактору VIII плазмы

Во флакон с дефицитной по фактору VIII плазмой внести 2,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и периодическом покачива-

нии до полного растворения реагента. Перед использованием дефицитная по фактору VIII плазма должна быть выдержана при комнатной температуре в течение 15 мин.

1.2. Разведение плазмы-калибратора

Во флакон с плазмой-калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин до полного растворения реагента. Перед использованием плазма-калибратор должна быть выдержана при комнатной температуре в течение 15 мин.

1.3. Приготовление АПТВ-реагента

АПТВ-реагент готов к применению, перед использованием встряхнуть и выдержать при комнатной температуре в течение 15 мин.

1.4. Приготовление раствора кальция хлорида

Раствор кальция хлорида готов к применению.

1.5. Разведение концентрированного буфера трис-НСI

Содержимое флакона с концентрированным буфером трис-НСI перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой до 100,0 мл. В результате получают рабочий раствор буфера трис-НСI.

Таблица 1

Приготовление разведений плазмы-калибратора для построения калибровочного графика

Калибровочный раствор, №	1	2	3	4	5	6
Рабочий раствор буфера трис-НСI, мл	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Плазма-калибратор с аттестованным значением активности фактора VIII (100 %), мл	0,2	--	--	--	--	--
Перемешать и перенести в другую пробирку, мл	<div>▼ ▲</div> <div>ℒ 0,5 ℒ</div>					<div>▼ ▲</div> <div>ℒ 0,1 ℒ</div>
Получаемое разведение	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:500
Активность фактора VIII, С*	С	С/2	С/4	С/8	С/16	С/100

* Примечание: С – значение активности фактора VIII в плазме-калибраторе, указанное в паспорте к набору.

2. ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНОЙ КРИВОЙ

2.2. Построение калибровочной кривой с использованием полуавтоматических коагулометров или вручную

2.2.1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл калибровочного раствора № 1 (см. таблицу № 1).

2.2.2. В кювету или в пробирку (при мануальном определении) добавить 0,1 мл дефицитной по фактору VIII плазмы и прогреть смесь при +37 °С в течение 1 мин.

2.2.3. В кювету или в пробирку (при мануальном определении) добавить 0,1 мл АПТВ-реагента, имеющего комнатную температуру (+18... +25 °С).

2.2.4. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и начать отсчет времени свертывания до образования фибринового сгустка (при мануальном определении – при периодическом покачивании пробирки) (см. также руководство по эксплуатации к используемой модели коагулометра).

2.2.5. Аналогично определить время свертывания с калибровочными растворами № 2, № 3, № 4, № 5 и № 6.

2.2.6. По полученным данным построить калибровочную кривую, используя координатную сетку (представлена в паспорте к набору), где по оси ординат отмечают время свертывания (с), а по оси абсцисс - активность коагуляционного фактора VIII (%) в соответствии с приготовленными разведениями.

Для каждого разведения плазмы-калибратора выполнить определения дважды, средний результат отметить на калибровочной кривой. Соединить нанесенные точки.

Большинство полуавтоматических коагулометров способны построить калибровочную кривую и определить активность FVIII на основе времени свертывания. Для таких коагулометров после завершения определения времени свертывания в калибровочных растворах необходимо внести полученные данные и соответствующую им активность FVIII в память анализатора согласно руководству по эксплуатации используемой модели коагулометра.

2.3. Построение калибровочной кривой с использованием автоматических коагулометров

Построение калибровочной кривой с использованием автоматических коагулометров следует выполнять в соответствии с руководством пользователя.

При использовании автоматических коагулометров дополнительное разведение плазмы-калибратора для исследования проводится рабочим раствором буфера трис-HCl на борту коагулометра автоматически.

3. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

3.1. Определение активности фактора VIII с использованием полуавтоматических коагулометров или вручную

3.1.1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл разведенной в 5 раз исследуемой плазмы.

3.1.2. В кювету или в пробирку (при мануальном определении) добавить 0,1 мл дефицитной по фактору VIII плазмы и прогреть смесь при +37 °С в течение 1 мин.

3.1.3. В кювету или в пробирку (при мануальном определении) добавить 0,1 мл АПТВ-реагента, имеющего комнатную температуру.

3.1.4. Через 3 мин к смеси добавить 0,1 мл раствора кальция хлорида (имеющего температуру +37 °С) и начать отсчет времени свертывания до образования фибринового сгустка (при мануальном определении – при периодическом покачивании пробирки) (см. также руководство по эксплуатации к используемой модели коагулометра).

3.1.5. Используя калибровочную кривую, найти активность коагуляционного фактора VIII.

3.2. Определение активности фактора VIII с использованием автоматических коагулометров

Определение активности коагуляционного фактора VIII в плазме крови пациента с использованием автоматических коагулометров следует выполнять в соответствии с руководством пользователя.

При использовании автоматических коагулометров дополнительное разведение плазмы пациента для исследования проводится рабочим раствором буфера трис-HCl на борту коагулометра автоматически.

4. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нормальной плазме активность фактора VIII составляет **50-150 %**.

4. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества рекомендуется использовать контрольную плазму с нормальным диапазоном значений «Тех-контроль Н» (кат. № 776), а также контрольную плазму с патологическим диапазоном значений «Тех-контроль П» (кат. № 777).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения активности фактора VIII в плазме крови (Тех-Фактор VIII-тест) в зависимости от объема используемых реагентов предназначен для выполнения от 20 до 40 определений (см. таблицу 2).

Таблица 2

Максимальное число определений при разном расходе реагентов

Расход реагентов на одно определение	Количество определений
0,1 мл	20
0,05 мл	40

Набор реагентов для определения активности фактора VIII в плазме крови (Тех-Фактор VIII-тест) необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора – **18 месяцев** в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +30 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, а также однократное замораживание.

Таблица 3

Условия хранения после вскрытия флаконов и приготовления реагентов

Температурный режим	Продолжительность хранения				
	АПТВ-реагент после вскрытия флакона	Раствор кальция хлорида после вскрытия флакона	Плазма-калибратор	Дефицитная по фактору VIII плазма	Рабочий раствор буфера трис-HCl
+37 °С	-	Не более 4 часов	-	-	-
+18... +30 °С	Не более 3 суток	Не более 1 суток	Не более 3 часов	Не более 4 часов	Не более 1 суток
+2... +8 °С	Не более 30 суток	Не более 30 суток	-	-	Не более 30 суток
- 20 °С	-	-	-	-	-

Не следует смешивать реагенты из наборов разных серий.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ОТХОДОВ

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию медицинского изделия следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Медицинское изделие, не подлежащее использованию, а также с истекшим сроком годности относится к медицинским отходам класса А (СанПиН 2.1.3684-21), не содержащим потенциально опасные материалы и вещества (эпидемиологически безопасные отходы).

Все использованные одноразовые расходные материалы, образующиеся при работе с изделием, содержащие образцы плазмы крови пациентов, необходимо подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»), как потенциально инфицированные медицинские отходы класса Б (СанПиН 2.1.3684-21). Сбор, временное хранение и вывоз таких отходов следует выполнять в соответствии со схемой обращения с медицинскими отходами, принятой в организации, осуществляющей медицинскую деятельность.

Реагенты, входящие в состав набора, не являются горючими и взрывоопасными. Сильное нагревание вторичной упаковки (коробки и блистера) может приводить к их возгоранию.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

МАРКИРОВКА ИЗДЕЛИЯ

На флаконах и упаковке изделия нанесены следующие символы:



Медицинское изделие для диагностики



Серийный номер



in vitro

Температурный диапазон



Использовать до ...

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов для определения активности фактора VIII в плазме крови (Тех-Фактор VIII-тест), следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <https://www.tehnologia-standart.ru>, <http://технология-стандарт.рф>.

Версия инструкции 1.0.