



Інструкція
з використання набору реагентів
для визначення активності фактора VIII в плазмі крові
ФАКТОР VIII-ТЕСТ

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 20-40 визначень при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Принцип методу

Визначають час згортання плазми крові в суміші, що містить дефіцитну по фактору VIII плазму, розведену досліджувану плазму і АПТЧ-реагент, в присутності іонів кальцію. кількісне визначення активності фактора VIII виконують за графіком залежності активності фактора VIII (в%) від часу згортання в АПТЧ-тесті.

Призначення

Набір Фактор VIII-тест призначений для визначення активності фактора VIII в плазмі крові. Визначення фактора VIII використовується для діагностики гемофілії А, для контролю замісної терапії хворих на гемофілію А концентратами фактора VIII, а також для діагностики тромбофілії, обумовленої підвищеним рівнем фактора VIII.

Склад набору

1. Дефіцитна по фактору VIII плазма (ліофільно висушена плазма крові людини, рівень фактора VIII в якій не вище 1%), на 2 ml (мл) - 1 фл.
2. Контрольна плазма (пулірована ліофільно висушена плазма крові людини з відомим вмістом фактора VIII), на 1 ml (мл) - 1 фл.
3. АПТЧ-реагент (розчин елагової кислоти, містить мозкові фосфоліпіди кролика), 2.5 ml (мл) - 1 фл.
4. Кальцію хлорид 0.025 M, 10 ml (мл) - 1 фл.
5. Буфер трис-НСІ (концентрований 20:1; 1 M, рН 7.4), 5 ml (мл) - 1 фл.
6. Інструкція з використання.
7. Паспорт.

Аналітичні характеристики

Лінійність визначення фактора VIII знаходиться в діапазоні від 1 до 100%. Коефіцієнт варіації результатів визначення не перевищує 10%. Допустимий розкид результатів визначення активності фактора VIII в одній пробі плазми різними наборами однієї серії не перевищує 10%. Тест чутливий до присутності в крові антикоагулянтів.

Перелік необхідного устаткування

- коагулометр (при відсутності коагулометра- секундомір, термобаня на 37°C);
- центрифуга лабораторна;
- піпетки місткістю 0.1, 0.5 і 0.2-1.0 ml (мл);
- мірний циліндр на 100 ml (мл);
- пробірки скляні.

Підготовка зразків

Кров для дослідження забирають з ліктьової вени в пластикову або силіконову пробірку, що містить 3.2% розчин натрію лимоннокислого трьох заміщеного (цитрату натрію), співвідношення обсягів крові і цитрату натрію - 9:1. Кров центрифугують при 3000-4000 г/min (об/хв) (1200 g) протягом 15 min (хв). В результаті отримують бідну тромбоцитами плазму, яку переносять в іншу пробірку, де зберігають до проведення дослідження. Центрифугування має проводитися безпосередньо після взяття крові, а відбір плазми на дослідження - відразу ж після центрифугування. Не допускається аналіз плазми крові, що має згустки, гемоліз і отриманої більше 2 h (год) тому. Перед проведенням аналізу всі досліджувані зразки розвести робочим розчином буфера в 5 разів (0.1 ml (мл) зразка + 0.4 ml (мл) робочого розчину буфера).

Підготовка реагентів

1. Розведення дефіцитної по фактору VIII плазми. У флакон з дефіцитною по фактору VIII плазмою внести 2.0 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі 18-25°C протягом 3 min (хв). Перед використанням дефіцитна по фактору VIII плазма повинна бути витримана при кімнатній температурі протягом 15 min (хв).
 2. Розведення контрольної плазми. У флакон з контрольною плазмою внести 1.0 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі протягом 3 min (хв). Перед використанням контрольна плазма повинна бути видержана при кімнатній температурі протягом 15 min (хв).
 3. Приготування АПТЧ-реагенту. АПТЧ-реагент готовий до застосування, перед використанням струснути.
 4. Приготування розчину кальцію хлориду. Кальцію хлорид готовий до застосування.
 5. Розведення концентрованого буфера. Вміст флакона з концентрованим буфером трис-НСІ перенести в мірний циліндр і довести об'єм дистильованою водою до 100 ml (мл). В результаті отримують робочий розчин буфера.
- Приготування розведень контрольної плазми для побудови калібрувального графіка

Пробірка №	1	2	3	4	5	6
Буфер, ml (мл)	0.8	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Контрольна плазма, атестована за активністю VIII фактора, ml (мл)	0.2	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Перемішати і перенести в іншу пробірку	▼ ▲ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘	▼ ▲ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘	▼ ▲ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘	▼ ▲ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘	▼ ▲ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘	▼ ▲ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘ └┬┘
Отриманий розведений розчин	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:500
Активність фактора	100%	50%	25%	12.5%	6.25%	1%

Побудова калібрувальної кривої

Для кожного розведення контрольної плазми виконати визначення двічі, середній результат відзначити на калібрувальній кривій. З'єднати нанесені точки. Калібрувальна крива будується на координатній сітці, представленій в Паспорті до набору.

Проведення аналізу

Коагулометричний варіант:

1. У кювету коагулометра внести 0.1 ml (мл) розведеної в 5 разів досліджуваної плазми (або одного з розведень контрольної плазми при побудові калібрувального графіка).
2. У кювету додати 0.1 ml (мл) дефіцитної по фактору VIII плазми і прогріти суміш при 37°C протягом 1 min (хв).
3. У кювету додати 0.1 ml (мл) АПТЧ-реагенту, має кімнатну температуру.
4. Через 3 min (хв) до суміші додати 0.1 ml (мл) робочого розчину кальцію хлориду, що має температуру 37°C і зареєструвати час згортання (див. також Інструкцію до коагулометра).
5. Використовуючи калібрувальну криву, визначити активність фактора VIII.

Мануальний варіант:

1. До 0.1 ml (мл) розведеної в 5 разів досліджуваної плазми (або одного з розведень контрольної плазми при побудові каліброваного графіка), взятої в пробірку, додати 0.1 ml (мл) дефіцитної по фактору VIII плазми і 0.1 ml (мл) АПТЧ-реагенту.
2. Пробірку струснути і помістити на водяну баню при температурі 37°C.
3. Через 3 min (хв) до суміші додати 0.1 ml (мл) розчину кальцію хлориду, що має температуру 37°C і включити секундомір.
4. Дістати пробірку з бані і зафіксувати час згортання (утворення фібрину) при періодичному погойдуванні пробірки.
5. Використовуючи калібрувальну криву, визначити активність фактора VIII. У нормі рівень фактора VIII знаходиться в діапазоні 50-150%.

Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.

3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобової температурі 37°C не більше 72 h (год).

Гарантії виробника


1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.

2. Гарантійний термін зберігання становить 18 mth (міс) з дня виготовлення набору.








Література

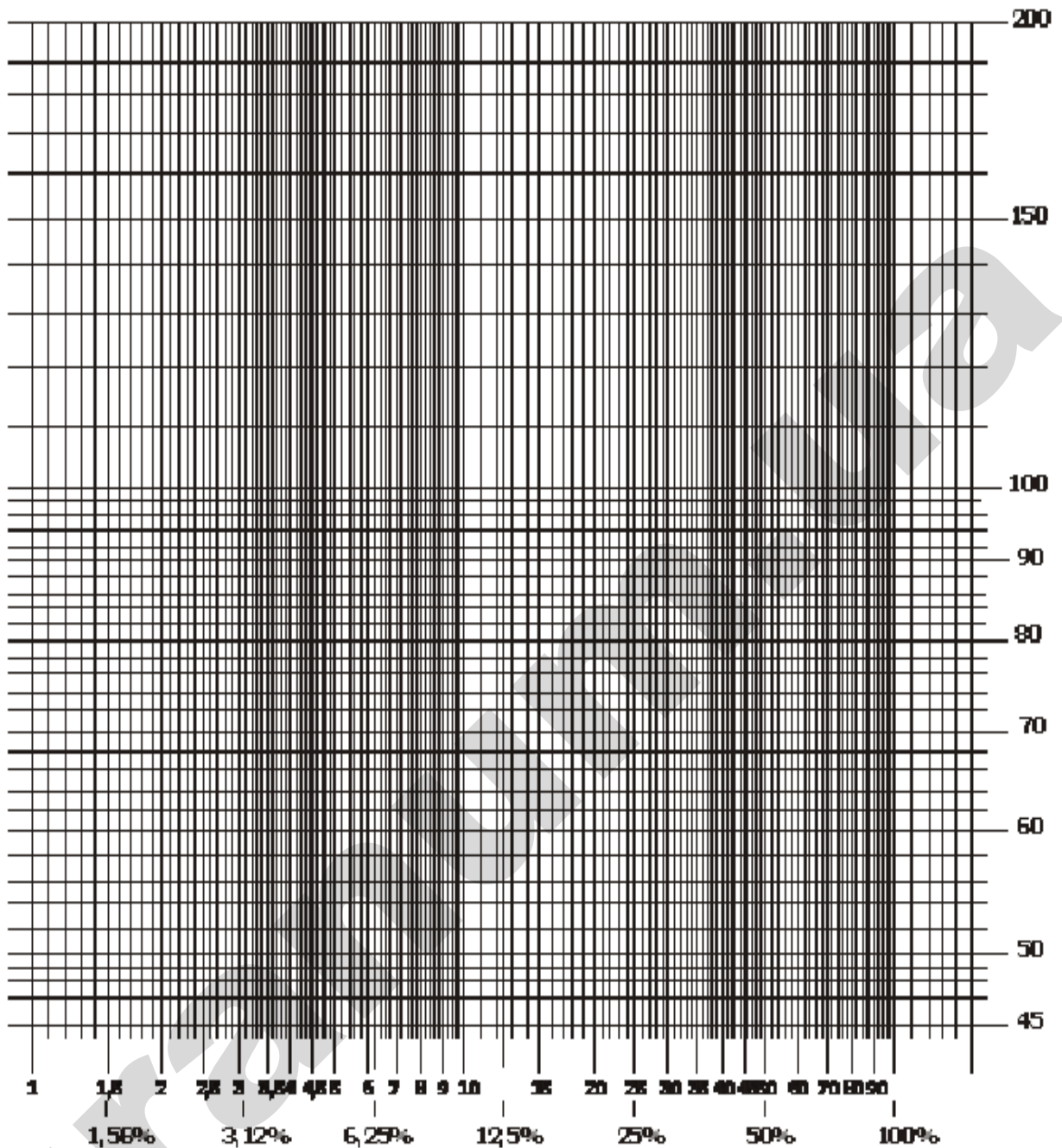
1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.

2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

 ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14,
тел/факс: (057) 752-32-31, електронна адреса: granumlab@gmail.com

Символи на продукції

 Виробник	Виготовлено: Дата виробництва	Придатно до: Термін придатності	Серія: Номер
серії  Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання		
 Берегти від сонячного світла	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Температурне	
обмеження  Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів			



Активність фактора VIII, %

%	Сек.
100	
50	
25	
12.5	
6.25	
1	