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

IN VITRO Зберігати при 2-8ºС

Тільки для професійного використання.
Набір розрахований на 20-40 визначень з урахуванням калібрувальних та контрольних проб при витраті реактивів 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 плазма по фактору VIII, на 1 ml (мл) - 2 фл.
2. Плазма калібрувальна, на 1 ml (мл) - 1 фл.
3. АПТЧ-реагент, 2.5 ml (мл) - 1 фл.
4. Кальцію хлорид 0.5 М, 0.5 ml (мл) - 1 фл.
5. Буфер імідазольний, 10 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°С);
- 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 силіконовану 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 r/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 буфером імідазольним в 5 разів (0.1 ml (мл) зразка + 0.4 ml (мл) буфера імідазольного).

granum.ua

Підготовка реагентів

1. Дефіцитна плазма по фактору VIII. У флакон з дефіцитною плазмою по фактору VIII внести 1.0 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі 18-25°C протягом 15 min (хв). Після відновлення реагент стабільний протягом 8 h (год) при 2-8°C.
2. Плазма калібрувальна. У флакон з плазмою калібрувальною внести 1.0 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі протягом 20 min (хв). Після відновлення реагент стабільний протягом 2 h (год) при 2-8°C.
3. АПТЧ-реагент готовий до застосування, перед використанням струснути.
4. Кальцію хлорид. Для приготування робочого розчину кальцію хлориду в день дослідження, відповідно до потреби, концентрований розчин кальцію хлориду 0.5 M розвести дистильованою водою в 25 разів (1 обсяг концентрованого розчину + 24 обсягів води). Отримують 0.02 M розчин кальцію хлориду. Робочий розчин кальцію хлориду можна зберігати при кімнатній температурі 18-25°C не більше 1 d (доб) або не більше 2-х d (доб) при температурі 2-8°C. У зв'язку зі здатністю поглинати вуглекислоту, пари кислот і інші домішки в повітрі, розчини (концентрований і робочий) кальцію хлориду повинні перебувати в герметично закритій тарі, в іншому випадку згортаюча активність препарату знижується і час згортання подовжується.
5. Буфер імідазольний готовий до застосування.

Приготування розведень плазми калібрувальної для побудови калібрувального графіка

Пробірка №	1	2	3	4	5	6
Буфер імідазольний, ml (мл)	0.8	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Плазма калібрувальна, ml (мл)	0.2	0	0	0	0	0
Перемішати і перенести в іншу пробірку	▼ ▲ 0,5мл	▼ ▲ 0,5мл	▼ ▲ 0,5мл	▼ ▲ 0,5мл	▼ ▲ 0,5мл	▼ ▲ 0,1мл
Активність фактора	100%	50%	25%	12.5%	6.25%	1.25%

Проведення аналізу

Коагулометричний варіант:

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

***Прим**. Вибір об'єму реагентів залежить від об'єму кювети аналізатора, який використовується.*

Мануальний варіант:

1. В пробірку внести 0.1 ml (мл) досліджуваної плазми, розведеної в 5 разів, або одного з розведень контрольної плазми.
2. Додати 0.1 ml (мл) дефіцитної по фактору VIII плазми і 0.1 ml (мл) АПТЧ-реагенту.
3. Пробірку струсити і помістити на водяну баню при температурі 37°C.
4. Через 3 min (хв) до суміші додати 0.1 ml (мл) розчину кальцію хлориду, що має температуру 37°C і включити секундомір.
5. Дістати пробірку з бані і зафіксувати час згортання при періодичному погойдуванні пробірки.
6. Використовуючи калібрувальну криву, визначити активність фактора VIII.

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 або на міліметровому папері.

Референтні величини

У нормі рівень фактора VIII знаходиться в діапазоні 50-150%.

Вимоги безпеки та утилізації

granum.ua

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°С.
Допускається транспортування за середньодобової температури 37°С 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.

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

granum.ua

Символи на продукції

Виробник **Виготовлено:** Дата виробництва **Придатно до:** Термін придатності **Серія:** Номер серії
Виріб медичний для діагностики in vitro IVD Консультуйтесь 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