



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro Набор реагентов для определения фибринолитической активности плазмы крови человека (XIIa-зависимый фибринолиз) по ТУ 9398-280-05595541-2007

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики in vitro Набор реагентов для определения фибринолитической активности плазмы крови человека (XIIa-зависимый фибринолиз) по ТУ 9398-280-05595541-2007 (сокращенное наименование – XIIa-зависимый фибринолиз) предназначен для исследования системы фибринолиза ручным методом.

Область применения. Область применения набора – клиническая медицина, клиническая лабораторная диагностика.

Предназначенный пользователь. Определение фибринолитической активности плазмы крови с помощью набора XIIa-зависимый фибринолиз может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Диагностическая роль. Исследование фибринолитической активности плазмы крови позволяет оценить состояние внутреннего и внешнего механизмов активации плазминогена, образования плазмина и лизиса фибринового сгустка. Метод чувствителен к различным патологиям в плазменных протеолитических системах и применяется в комплексе с другими методами.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

Буфер имидазоловый концентрированный - 2,0 мл/флакон	– 1 шт.;
Кальций хлористый 0,025 М раствор - 10 мл/флакон	– 2 шт.;
Уксусная кислота 1% раствор - 10 мл/флакон	– 1 шт.;
Каолин 0,5% суспензия 5,0 мл/флакон	– 2 шт.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 40 анализов.

Принцип действия. Тест основан на измерении времени полного лизиса эуглобулиновой фракции, полученной из плазмы крови при осаждении в кислой среде и содержащей факторы свертывания крови и фибринолиза. Из плазмы крови выделяют эуглобулиновую фракцию, содержащую плазминоген, фибриноген, факторы свертывания и не содержащую ингибиторов фибринолиза. При добавлении к этой фракции кальция хлористого образуется сгусток фибрина, который затем лизируется плазмином. Реакция активируется фактором XIIa. Время от момента образования сгустка до его растворения выражает фибринолитическую активность исследуемой плазмы крови.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения XIIa-зависимого фибринолиза: билирубин в концентрации до 0,2 г/л; гемоглобин (свободный) – до 1 г/л; триглицериды – до 1,2 г/л. Уменьшение концентрации фибриногена (гипофибриногенемия и дисфибриногенемия) вызывает уменьшение времени лизиса эуглобулиновой фракции.

Гиперфибриногенемия вызывает увеличение времени лизиса эуглобулиновой фракции (процесс угнетения фибринолиза). Результаты определения XIIa-зависимого фибринолиза могут зависеть от назначаемых препаратов. Препараты ϵ -аминокапроновой кислоты вызывают угнетение фибринолиза и удлинение времени лизиса эуглобулиновой фракции.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения XIIa-зависимого фибринолиза в одной пробе плазмы одним набором не превышает 10%. Коэффициент вариации результатов определения XIIa-зависимого фибринолиза в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10%.

Значения, соответствующие нормальным

Нормальный диапазон полного лизиса эуглобулиновой фракции, полученной при определении XIIa-зависимого фибринолиза у не менее 100 здоровых доноров, составляет 5 - 12 мин и указан в паспорте для каждой серии набора.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов XIIa-зависимый фибринолиз предназначен только для диагностики in vitro. Класс потенциального риска применения набора – 2a.

Набор реагентов XIIa-зависимый фибринолиз не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду и не представляет рисков, связанных с возможностью взрыва и возгорания.

При работе с набором XIIa-зависимый фибринолиз и с исследуемыми образцами крови пациентов 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 следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, т.к. образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительно сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирусы гепатита В и С или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термобаня с возможностью поддерживать температуру $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$;
- центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- мерный цилиндр вместимостью 50 мл;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, 50-200 мкл, 200-1000 мкл и 1-10 мл;
- вода дистиллированная;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М);
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- пластиковые прозрачные или силиконированные стеклянные пробирки вместимостью 10 мл;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов XIIa-зависимый фибринолиз предназначен для определения времени лизиса эуглобулинового сгустка, полученного из плазмы человеческой крови.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примеси эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

Процедура получения биологического материала

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% 5,5-водным цитратом натрия (0,109 моль/л) в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 2-водным цитратом натрия (0,109 моль/л), центрифугировать при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 г).

Плазму крови после получения или анализируют сразу, или помещают во флаконы с плотно закрывающимися крышками и замораживают при температуре не выше -20°C .

Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 часов при комнатной температуре и не более 8 часов при температуре от плюс 2 до плюс 8°C . Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус $18-20^\circ\text{C}$ и хранение при этой температуре не более 2 месяцев.

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

Рабочий буферный раствор. Буфер имидазоловый концентрированный (2,0 мл) перелить в мерный цилиндр и довести до объема 40 мл дистиллированной водой (разведение в 20 раз), тщательно перемешать.

Каолин. Суспензия легкой фракции каолина в дистиллированной воде является готовым реагентом для проведения анализа.

Уксусная кислота, 1% раствор. Является готовым реагентом для проведения анализа.

Кальций хлористый 0,025 М раствор. Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед проведением анализа прогреть при температуре 37°C . Повторно не прогревать.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение анализа

Внести в пробирку	Объем, мл
Дистиллированная вода	8,0
Уксусная кислота 1% раствор	0,2
Плазма контрольная (исследуемая)	0,5
Каолин 0,5% суспензия	0,2
Перемешать и инкубировать полученную смесь при 37 ⁰ С точно 30 минут	
Центрифугировать смесь 6 минут при 1500 об/мин и отобрать надосадочную жидкость, не затрагивая осадка.	
К осадку добавить рабочий буферный раствор	0,5
Аккуратно, пипетированием перемешать полученную смесь	
Внести кальций хлористый 0,025 М раствор	0,5
Через 30-60 сек после образования сгустка включить секундомер и отметить время полного лизиса сгустка.	

Регистрация результатов

Секундомером регистрируют время полного лизиса (растворения) эуглобулинового сгустка.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Учет результатов проводится путем сравнения времени лизиса эуглобулиновых сгустков нормальной человеческой плазмы и исследуемой плазмы пациента.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Активация фибринолиза в организме происходит при гетеротранфузионном шоке, пептонном шоке, ожогах, электротравме, во время приступов эпилепсии и у больных, находящихся в состоянии ожидания хирургического вмешательства. Увеличение времени лизиса эуглобулиновой фракции (процесс угнетения фибринолиза) указывает на первую фазу ДВС – синдрома. Снижение фибринолитической активности крови является одним из ведущих факторов тромбообразования и атеросклероза, у больных с тромбоэмболическими осложнениями.

В связи с ориентировочным характером и недостаточной специфичностью теста спонтанного лизиса эуглобулинового сгустка (зависит от содержания фибриногена и неполноценной полимеризации фибрина в плазме) необходимо использование определения отдельных фибринолитических факторов, таких как плазминоген, антиплазмин и т.д.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.

Нормальные и патологические значения ХПа-зависимого фибринолиза следует контролировать с помощью Плазмы контрольной (пул здоровых доноров) Плазма Н, код КМ-1.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 24 месяца. Не использовать набор после истечения срока годности!

Набор стабилен в течение всего срока годности при условии хранения реагентов в укупоренном виде при температуре от плюс 2 до плюс 8°С. Вскрытые компоненты набора можно хранить в плотно укупоренном состоянии при температуре от плюс 2 до плюс 8°С не более 30 суток.

Транспортирование наборов должно осуществляться при температуре от плюс 2 до плюс 8°С в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов в соответствии с правилами перевозок, действующими на данном виде транспорта. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°С не более 10 суток. Замораживание не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора ХПа-зависимый фибринолиз требованиям Технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» отходы от работы с набором ХПа-зависимый фибринолиз 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.

Наборы реагентов ХПа-зависимый фибринолиз, 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
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель

ЛИТЕРАТУРА

- Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., «Ньюдиамед», 2001.- 285 с.
- Козлов А.А., Берковский А.Л., Качалова Н.Д., Сергеева Е.В., Простакова Т.М. Пособие для врачей-лаборантов по методам исследования плазменного гемостаза. Противосвертывающая система, система фибринолиза. М. Принт. 2014.- 24 с.
- Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000.- 360 с.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2. тел/факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru