

УТВЕРЖДЕНА
приказом Росздравнадзора
от « » 2010 г.
№

«УТВЕРЖДАЮ»
Президент
МБООИ «Общество больных
гемофилией»
Ю.А. Жулев
15» 03 2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов для определения содержания
фибриногена
(Фибриноген-тест).

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Фибриноген-тест предназначен для количественного определения содержания фибриногена в плазме крови человека по методу Клаусса.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Измеряется время свертывания разбавленной в 10 раз цитратной плазмы крови при добавлении избытка тромбина. В этой системе время образования сгустка фибрина зависит только от концентрации в плазме фибриногена, определяемой по калибровочному графику разведений плазмы-калибратора с установленным содержанием фибриногена.

2.2. Состав набора

1. Тромбин человека, лиофильно высушенный - 8 флаконов;
2. Плазма-калибратор, лиофильно высушенная - 1 флакон;
3. Буфер имидазоловый концентрированный - 1 флакон (5,0 мл).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ

Измерения содержания фибриногена в плазме крови проводят при гиперфибриногенемии, которая связана с тяжестью воспалительных, иммунных, деструктивных процессов, а также является одним из факторов повышенного риска развития гипервискозного синдрома, артериальных тромбозов и инфарктов органов. Снижение концентрации фибриногена наблюдается при остром ДВС-синдроме, при лечении фибринолитиками, при врожденных гипо- и дисфибриногенемиях.

Гиняев
15.03.10г.

В состав тромбина входит инактиватор гепарина, что позволяет использовать данный реагент для измерения содержания фибриногена в гепаринизированных образцах плазмы больных.

Линейность определяемых значений содержания фибриногена в плазме крови человека - в диапазоне концентраций от 0,8 до 5,0 г/л, отклонение от линейности - не более 5%.

Коэффициент вариации результатов определения - не более 5%.

Чувствительность определения - 0,7 г/л.

Допустимый разброс результатов при использовании разных наборов одной серии - не более 5%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

4.2. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.3. При работе с образцами крови следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ:

- Коагулометр с набором пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная медицинская, развивающая ускорение 2000 g;
- пипетки полуавтоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,05; 0,1; 1,0; 2,0 мл;
- пробирки стеклянные силиконизированные или пластиковые вместимостью 10 мл;
- вода дистиллированная;
- бумага масштабнo-координатная логарифмическая;
- колба мерная стеклянная вместимостью 100 мл;
- 3,8% раствор натрия лимоннокислого (цитрата);
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Венозную кровь отобрать в пластиковую или стеклянную силиконизированную пробирку на 3,8% (0,11 М) цитрате натрия (9:1), центрифугировать в течение 15 мин при 2000 g (3000 об/мин). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 0,2 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре

(18-25°C) - не более 4 ч, при температуре 2-8°C - не более 8 ч. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 20°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

7.1. Приготовление реагентов

Приготовление рабочего буферного раствора.

Концентрат буфера перенести количественно в мерную колбу вместимостью 100 мл, довести до метки дистиллированной водой и перемешать. Рабочий буферный раствор можно хранить при температуре 2-8 °C не более 1 мес.

Приготовление раствора тромбина.

Внести в один флакон с лиофильно высушенным тромбином 2,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании. Реагент готов к проведению анализа через 20 мин после приготовления.

Приготовление раствора плазмы-калибратора.

Внести во флакон с плазмой-калибратором 1,0 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 мин после приготовления.

7.2. Стабильность.

Реагенты	2-8°C	18-25°C	-18-20°C
Раствор тромбина	5 сут	2 сут	2 мес
Раствор плазмы-калибратора	8 ч	4 ч	2 мес

7.3. Построение калибровочного графика.

Использовать только пластиковые или силиконированные стеклянные пробирки. Приготовить следующие разведения плазмы-калибратора:

Пробирка, №	1	2	3	4
Содержание фибриногена в плазме-калибраторе, г/л	2А*	А	0,5А	0,25А
Рабочий буферный раствор, мл	0,8	0,5	0,5	0,5
Раствор плазмы-калибратора, мл	0,2	-	-	-
Перемешать и перенести в пробирку, мл	0,5	0,5	0,5	

*А – содержание фибриногена в плазме-калибраторе, указанное в паспорте на набор.

Значения содержания фибриногена, г/л, отложить на оси Х. На оси Y отложить значения времени свертывания каждого разведенного образца плазмы-калибратора, сек. Через полученные точки провести калибровочный график, который в билогарифмических координатах должен представлять собой прямую линию. Линейность в диапазоне концентраций фибриногена - от 0,8 до 5,0 г/л.

7.4. Проведение анализа.

Исследуемую плазму пациента развести рабочим буферным раствором в 10 раз.

Внести в кювету анализатора:	Объем
Разведенная плазма-калибратор (исследуемая)	100 мкл
Инкубировать при температуре 37°C точно 2 мин	
Раствор тромбина	50 мкл
Зафиксировать время свертывания, сек.	

По калибровочному графику определить содержание фибриногена в плазме пациента, г/л.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрируют время свертывания исследуемой плазмы, сек, после добавления раствора тромбина.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

В норме содержание фибриногена составляет 1,8 – 4,0 г/л.

При анализе плазмы крови пациентов с высоким (более 4,0 г/л) содержанием фибриногена развести плазму в 20 раз, а полученное по графику значение умножить на 2. Если содержание фибриногена в плазме пациента около 1,0 г/л, для уточнения полученного результата необходимо развести плазму в 5 раз и полученный результат разделить на 2.

Набор предназначен для всех типов коагулологических анализаторов, кроме тех, где используют суспензию каолина (необходимо обратить внимание на инструкцию, прилагаемую к коагулологическому анализатору).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение набора должно проводиться при температуре 2-8°C в течение всего срока годности - 24 мес. Допускается хранение набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

Раствор тромбина можно использовать не более 5 сут при условии хранения при температуре 2-8°C, не более 2 сут при хранении при комнатной температуре (18-25°C) и не более 2 мес при хранении в замороженном состоянии при температуре минус 18-20°C.

Раствор плазмы-калибратора можно использовать не более 8 ч при хранении при температуре 2-8°C, не более 4 ч при хранении при комнатной температуре и не более 2 мес при хранении в замороженном состоянии при температуре минус 18-20°C.

Рабочий буферный раствор можно хранить при температуре 2-8°C не более 1 мес.

По вопросам, касающимся качества набора Фибриноген-тест, следует обращаться в МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу:

125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4а, Гематологический научный центр РАМН, тел/факс (495) 614-90-57, e-mail: renam@blood.ru

и в Лабораторный Центр ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу: 117241, г. Москва, Научный проезд, д. 14 а, тел.: (499) 120-60-96.

Заведующий отделом производства НПО «РЕНАМ»

МБООИ «Общество больных гемофилией»

кандидат биологических наук



А.И. Берковский

Научный руководитель лаборатории

клинической коагулологии ГНЦ РАМН

доктор медицинских наук



С.А. Васильев