

УТВЕРЖДЕНА
приказом Росздравнадзора
от «___» _____ 2007 г.
№ _____



«УТВЕРЖДАЮ»
Директор НПО «РЕНАМ»
МБООИ «Общество больных
гемофилией»
_____ А.А.Козлов
_____ 2007 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению Набора реагентов для определения растворимых
фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в плазме крови человека
о-фенантролиновым методом
(«РФМК-тест»)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «РФМК-тест» предназначен для экспресс-оценки содержания растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в плазме крови человека с целью диагностики тромбинемии, одного из основных признаков диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, а также тромбозов и тромбоэмболий. В отличие от этанолового и протамина-сульфатного тестов о-фенантролиновый тест наиболее информативен и стандартен, позволяет проводить динамический контроль за содержанием РФМК в плазме, в том числе в процессе лечения.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Тест основан на оценке времени появления в исследуемой плазме хлопьев фибрина после добавления в нее о-фенантролина. Скорость образования хлопьев зависит от концентрации РФМК.

2.2. Состав набора

- О-фенантролин (100 мг/фл) – 4 флакона;
- Положительный контроль, лиофильно высушенный – 1 флакон;
- Отрицательный контроль, лиофильно высушенный – 1 флакон.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Время появления хлопьев в растворе положительного контроля после добавления о-фенантролина - не более 10 сек.

Продолжительность отсутствия хлопьев в растворе отрицательного контроля после добавления о-фенантролина - не менее 120 сек.

«РФМК-тест» является качественным диагностическим тестом, который имеет достоверную корреляцию с наличием у пациентов тромбинемии, свидетельствующей об остром инфаркте миокарда, тромбоэмболии легочной артерии, тромбозе вен нижних конечностей, тромбозе коронарного шунта и др.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека, для работы с которыми предназначен данный набор, следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,1 мл;
- перчатки резиновые хирургические;
- вода дистиллированная;
- пробирки стеклянные вместимостью 10 мл.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Венозную кровь смешать в пластиковой или в стеклянной силиконизированной пробирке с 3,8% (0,11 М) раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Сразу же провести центрифугирование цитратной крови в течение 7 мин при комнатной температуре и при скорости вращения 1000 об/мин (240 g). Плазму перенести в другую пробирку и повторно центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200 g). Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 0,2 мл бедной тромбоцитами плазмы.

Хранить плазму до анализа не более 2 ч при комнатной температуре (18-25°C) и не более 8 ч при температуре 2-8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 20°C и хранение при этой температуре в течение 2 мес.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление и стабильность реагентов

Рабочий 0,78% раствор о-фенантролина. Взвесить на аналитических или торсионных весах 78 мг порошка о-фенантролина и растворить в 10 мл дистиллированной воды. Раствор готов к проведению анализа через 15 мин после приготовления. Раствор может храниться в течение 7 сут при температуре 2-8°C. Раствор, изменивший окраску из бесцветной на розовую, непригоден для выполнения анализа.

Положительный контроль. Внести во флакон 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое в течение 5 мин при покачивании при комнатной температуре (18-25°C). Раствор готов к проведению анализа через 15 мин после приготовления. Использовать в течение 4 ч. Допускается однократное замораживание при температуре минус 20°C и хранение при этой температуре в течение 2 мес.

Отрицательный контроль. Внести во флакон 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое в течение 5 мин при покачивании при комнатной температуре (18-25°C). Раствор готов к проведению анализа через 15 мин после

приготовления. Использовать в течение 4 ч. Допускается однократное замораживание при температуре минус 20°C и хранение при этой температуре в течение 2 мес.

7.2. Ход исследования

Для проведения анализа необходимо использовать прозрачные пробирки (стеклянные несиликонированные или пластиковые прозрачные).

Внести в пробирку	Объем
Раствор одного из контролей или исследуемую плазму	100 мкл
Рабочий раствор о-фенантролина	100 мкл
В проходящем свете (можно использовать осветитель для микроскопа) на темном фоне при непрерывном покачивании пробирки регистрируется время от момента добавления о-фенантролина до начала появления первых хлопьев	

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При положительном контроле регистрируют появление «снежной бури» в течение первых 10 сек после добавления о-фенантролина. При отрицательном контроле не должно наблюдаться появления хлопьев в течение 120 сек после добавления о-фенантролина.

Появление в исследуемой плазме в течение первых 120 сек хорошо видимых хлопьев свидетельствует о наличии в ней растворимых фибрин-мономерных комплексов.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Регистрируется время от момента добавления о-фенантролина до начала появления первых хлопьев. Количество фибрин-мономерных комплексов можно оценить по таблице зависимости концентрации РФМК от времени появления хлопьев.

Время, сек	5-6	7	8	9	10	11	12
Концентрация, г/л $\times 10^{-2}$	28	26	24	22	21	19	17
Время, сек	13	14	15	16	17-18	19-20	21-23
Концентрация, г/л $\times 10^{-2}$	16	15	14	13	12	11	10
Время, сек	24-25	26	27-28	29-31	32-33	34-36	37-40
Концентрация, г/л $\times 10^{-2}$	9	8,5	8,0	7,5	7,0	6,5	6,0
Время, сек	41-45	46-54	55-69	70-87	88-120		
Концентрация, г/л $\times 10^{-2}$	5,5	5,0	4,5	4,0	3,5		

В норме концентрация РФМК составляет $3-4 \times 10^{-2}$ г/л.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор должен применяться согласно инструкции по применению.

Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 10 сут.

Раствор о-фенантролина можно хранить не более 7 сут. Окрашивание бесцветного раствора о-фенантролина в розовый цвет указывает на непригодность реагента для анализа.

Растворы положительного и отрицательного контроля готовят непосредственно перед использованием и хранят не более 4 часов.

Возможно однократное замораживание растворов положительного и отрицательного контроля при температуре минус 20°C и хранение при этой температуре в течение 2 мес.

Срок годности наборов - 24 мес со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя.

Транспортирование наборов должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание наборов не допускается.

Заведующий отделом производства НПО «РЕНАМ»

МБООИ «Общество больных гемофилией»

кандидат биологических наук

А.Л.Берковский

«СОГЛАСОВАНО»

Руководитель ЗАО «Вымпел Медцентр»



С.П.Кондрашов

2006 г.