



УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО фирмы

«Технология-Стандарт»

А.П. Момот

«10» сентября 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для определения активности плазминогена в плазме крови

(ХромоТех-Плазминоген)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения активности плазминогена в плазме крови (ХромоТех-Плазминоген) предназначен для определения активности (в процентах от нормы) основного компонента фибринолитической системы - плазминогена. Определение плазминогена используют для диагностики тромбофилий, выявления нарушений фибринолиза, контроля лечения фибринолитическими препаратами при тромбозах, тромбозах, инфарктах.

Набор предназначен только для профессионального использования специалистами в области лабораторной диагностики: заведующими лабораториями, врачами КЛД, врачами-лаборантами, медицинскими лабораторными техниками (фельдшер-лаборант), лаборантами, медицинскими технологами.

Область применения набора: клиническая лабораторная диагностика, клиническая медицина.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. При добавлении стрептокиназы к разведенному образцу исследуемой плазмы образуется плазминоген-стрептокиназный комплекс, который обладает способностью расщеплять хромогенный субстрат. Скорость гидролиза нитроанилиновой связи хромогенного субстрата зависит от активности плазминогена. Регистрируют изменение оптической плотности (поглощения) на фотометре при длине волны 405 нм после добавления уксусной кислоты (двухточечный метод).



Состав набора:

1. Хромогенный субстрат (лиофильно высушенный), на 7,5 мл - 2 фл.
2. Стрептокиназа (лиофильно высушенная), на 7,5 мл - 2 фл.
3. Буфер трис-HCl (концентрированный 20:1 раствор, 1 М, рН 7,4), 10 мл - 1 фл.
4. Плазма-калибратор (лиофильно высушенная), на 1 мл - 2 фл.
5. Кювета (на 1 мл) - 1 шт.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Чувствительность – не более 5 %.

Линейность определения активности плазминогена - в диапазоне от 10 до 150 %, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Тест на «открытие» – не более 10 % отклонения.

Коэффициент вариации результатов определения активности плазминогена – не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения активности плазминогена в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии – не более 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Набор реагентов используется только для применения *in vitro*.

Реагенты, входящие в состав набора, в используемых концентрациях не токсичны.

Набор не содержат антитела к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- Фотометр с длиной волны 405 нм;
- центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- дозаторы пипеточные вместимостью 50 мкл, 0,5 и 1,0-10,0 мл;
- пробирки;
- вода дистиллированная;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- уксусная кислота, 30 % раствор;
- контрольная плазма с нормальным диапазоном значений («Тех-контроль Н», кат. № 776, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- контрольная плазма с патологическим диапазоном значений («Тех-контроль П», кат. № 777, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- буфер трис-HCl (При необходимости. Объем буфера трис-HCl в составе набора рассчитан на проведение до 200 определений. Для проведения большего числа определений – до 300 (см. п. 2 «Проведение анализа») необходима дополнительная поставка 1 флакона данного реагента, кат. № 027, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно);
- плазма-калибратор («Мультитех-калибратор», кат. № 773, производитель – ООО фирма «Технология-Стандарт», заказывается дополнительно при необходимости);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора

крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование - сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 4 ч назад. Допускается замораживание образцов при -16... -20 °C на срок до 1 мес.

Приготовление разведенной исследуемой плазмы. Перед проведением анализа 0,05 мл исследуемой плазмы смешать в пробирке с 1,0 мл рабочего раствора буфера трис-HCl.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Разведение концентрированного буфера трис-HCl

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный буфер трис-HCl развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного буфера трис-HCl + 19 объемов воды) при комнатной температуре (+18... +25 °C), в результате получают рабочий раствор буфера трис-HCl.

1.2. Разведение стрептокиназы

В один флакон со стрептокиназой внести 7,5 мл рабочего раствора буфера трис-HCl и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и периодическом покачивании до полного растворения реагента. В результате получают раствор стрептокиназы, который перед использованием должен быть выдержан при комнатной температуре не менее 15 мин.

1.3. Разведение хромогенного субстрата

В один флакон с хромогенным субстратом внести 7,5 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и периодическом покачивании до полного растворения реагента. В результате получают раствор хромогенного субстрата, который перед использованием должен быть выдержан при комнатной температуре не менее 15 мин.

1.4. Разведение плазмы-калибратора

В один флакон с плазмой-калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и периодическом покачивании до полного растворения реагента. Перед использованием плазма-калибратор должна быть выдержана при комнатной температуре не менее 15 мин.

Разведенную плазму-калибратор разлить по 0,1 мл в 9-10 герметично закрывающихся пластиковых пробирках и заморозить при температуре -16... -20 °С.

Разведенную или размороженную при температуре +37 °С плазму-калибратор (в объеме 50 мкл) использовать для получения калибровочных показателей поглощения в день проведения исследования. Перед проведением анализа 0,05 мл плазмы-калибратора смешать в пробирке с 1,0 мл рабочего раствора буфера трис-НСl.

Активность плазминогена в плазме-калибраторе указана в паспорте к набору реагентов.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

	Исследуемый образец	Контроль (бланк)
<i>Дозатором внести в пробирку:</i>		
Рабочий раствор буфера трис-НСl	-	0,5 мл
Разведенную исследуемую плазму или разведенную плазму-калибратор	0,5 мл	-
Раствор стрептокиназы	0,5 мл	0,5 мл
<i>Перемешать и инкубировать при температуре +37 °С в течение 10 мин.</i>		
Добавить хромогенный субстрат	0,5 мл	0,5 мл
Через 120 секунд внести 30 % раствор уксусной кислоты, перемешать	1,0 мл	1,0 мл
<i>В течение 5-10 мин после внесения уксусной кислоты в пробах определить поглощение (А) при длине волны 405 нм исследуемого образца плазмы против физиологического (0,9 %) раствора натрия хлорида.</i>		

В день проведения исследования анализы плазмы-калибратора и контроля (бланка) выполняются однократно вне зависимости от количества образцов исследуемой плазмы.

Описание хода определения дано для работы фотометрах, где кювета (с величиной оптического пути 1 см) имеет вместимость 1,0-1,5 мл. В этом случае набор «ХромоТех-Плазминоген» рассчитан на 60 определений. При работе с фотометрами, объем кюветы которых 0,5-0,7 мл, возможно выполнение с данным набором реагентов до 120 определений. При этом объем смешиваемых образцов и реагентов следует уменьшить в 2 раза.

При проведении анализа в микрокюветах (общий объем смешиваемых реагентов - 0,20-0,25 мл), расход каждого из реагентов кратно уменьшается в 10 раз, соответственно число определений увеличивается до 300.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты анализа выражают в процентах к норме. Активность плазминогена (С) вычисляют по формулам:

$$C_{\text{исслед. образца}} (\%) = (A_{\text{исслед. образца}} - A_{\text{бланка}}) \times \Phi П;$$

$$\Phi\P = \frac{C_{\text{плазмы-калибратора}} (\%) }{A_{\text{плазмы-калибратора}} - A_{\text{бланка}}},$$

где: $A_{\text{исслед. образца}}$ - поглощение (оптическая плотность) пробы с исследуемым образцом плазмы; $A_{\text{плазмы-калибратора}}$ - поглощение пробы (оптическая плотность) с плазмой-калибратором; $A_{\text{бланка}}$ - поглощение (оптическая плотность) бланка; $\Phi\P$ - фактор пересчета; $C_{\text{плазмы-калибратора}}$ - активность плазминогена в плазме-калибраторе (см. паспорт к набору).

В нормальной плазме активность плазминогена составляет **75-140 %**.

4. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества рекомендуется использовать контрольную плазму с нормальным диапазоном значений «Тех-контроль Н» (кат. № 776), а также контрольную плазму с патологическим диапазоном значений «Тех-контроль П» (кат. № 777).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения активности плазминогена в плазме крови (ХромоТех-Плазминоген) рассчитан на проведение 60-300 определений (число анализов зависит от объема кюветы).

Набор реагентов для определения активности плазминогена в плазме крови (ХромоТех-Плазминоген) необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора – **18 месяцев** в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +30 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, а также однократное замораживание.

Таблица 1.

Условия хранения после вскрытия флаконов и приготовления реагентов

Температурный режим	Продолжительность хранения				
	Раствор хромогенного субстрата	Раствор стрептокиназы	Плазма-калибратор	Концентрированный раствор буфера трис-НСl	Рабочий раствор буфера трис-НСl
+37 °С	-	-	-	-	-
+18... +30 °С	Не более 5 суток	Не более 1 суток	Не более 3 часов	-	Не более 2 суток

+2... +8 °C	Не более 15 суток	Не более 15 суток	Не более 1 суток	Не более 30 суток	Не более 7 суток
- 20 °C	Однократное заморажива- ние до 1 месяца	Однократное заморажива- ние до 1 месяца	Однократное заморажива- ние до 1 ме- сяца	-	-

Не следует смешивать реагенты из наборов разных серий.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ОТХОДОВ

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию медицинского изделия следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Медицинское изделие, не подлежащее использованию, а также с истекшим сроком годности относится к медицинским отходам класса А (СанПиН 2.1.3684-21), не содержащим потенциально опасные материалы и вещества (эпидемиологически безопасные отходы).

Все использованные одноразовые расходные материалы, образующиеся при работе с изделием, содержащие образцы плазмы крови пациентов, необходимо подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»), как потенциально инфицированные медицинские отходы класса Б (СанПиН 2.1.3684-21). Сбор, временное хранение и вывоз таких отходов следует выполнять в соответствии со схемой обращения с медицинскими отходами, принятой в организации, осуществляющей медицинскую деятельность.

Реагенты, входящие в состав набора, не являются горючими и взрывоопасными. Сильное нагревание вторичной упаковки (коробки и блистера) может приводить к их возгоранию.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

МАРКИРОВКА ИЗДЕЛИЯ

На флаконах и упаковке изделия нанесены следующие символы:



Медицинское изделие для диагностики
in vitro



Серийный номер



Температурный диапазон



Использовать до ...

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов для определения активности плазминогена в плазме крови (ХромоТех-Плазминоген), следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <https://www.tehnologia-standart.ru>, <http://технология-стандарт.рф>.

Версия инструкции 1.0.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью 8

(восемью) листов

» сентября 2024 г.

Директор ООО фирма
«Технология-Стандарт»

А.П. Момот

