

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____

№ _____



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для исследования XIIa-калликреин-зависимого,
спонтанного и индуцированного эуглобулинового фибринолиза
(Фибринолиз-тест)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Фибринолиз-тест предназначен для исследования XIIa-калликреин-зависимого, спонтанного и индуцированного эуглобулинового фибринолиза при диагностике и контроле за лечением тромбозов и ДВС-синдромов по методикам XIIa-калликреин-зависимого, спонтанного и индуцированного стрептокиназой эуглобулинового фибринолиза.

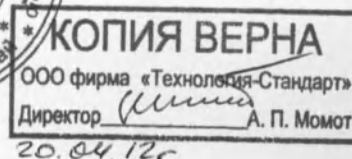
Набор рассчитан на проведение 400 анализов по одной из методик при расходе рабочего раствора буфера по 0,5 мл на 1 анализ.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Эуглобулиновые методы исследования фибринолитической активности позволяют определить время лизиса сгустка фибрина, получаемого из обработанной уксусной кислотой плазмы, после добавления к ней раствора кальция хлорида. При использовании диагностического набора имеется возможность определить спонтанный лизис эуглобулинов, а также стимулированный каолином или стрептокиназой.

Состав набора

1. Суспензия каолина (концентрированная 10:1, 0.5 %), 10 мл - 1 фл.
2. Кальция хлорид (концентрированный 20 г раствор 5.54%), 10 мл - 1 фл.
3. Буфер трис-HCl (концентрированный 20 г раствор 0.1 М), 10 мл - 1 фл.
4. Уксусная кислота (10 % раствор), 10 мл - 1 фл.



АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Коэффициент вариации результатов определения XIIa-калликреин-зависимого фибринолиза, спонтанного эуглобулинового фибринолиза и индуцированного стрептокиназой эуглобулинового фибринолиза не превышает 10%.

Допустимый разброс результатов определения XIIa-калликреин-зависимого фибринолиза, спонтанного эуглобулинового фибринолиза и индуцированного стрептокиназой эуглобулинового фибринолиза в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

Меры предосторожности – соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (М., 1981 г.).

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

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ:

- Термобаня, поддерживающая температуру 37 °С;
- секундомер;
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение 3000 об/мин (1200 g);
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкостей 0,18 мл; 0,2-1,0 мл; 5,0-10,0 мл;
- цилиндры мерные вместимостью 100 и 200 мл;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор натрия хлорида (0,9 %);
- стрептокиназа;

- растворитель для стрептокиназы;
- тромбин;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые хирургические;
- цитратная бедная тромбоцитами плазма здорового человека, полученная в день исследования (контрольная нормальная плазма).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8% раствор натрия лимоннокислого 3-замещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 1000 об/мин (240 g) при комнатной температуре (18-25 °C) в течение 7 мин. Богатую тромбоцитами плазму переносят в другую пробирку и повторно центрифугируют при 3000 об/мин (1200 g) при комнатной температуре в течение 15 мин.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование - сразу после завершения повторного центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды). В результате получают рабочий раствор кальция хлорида (0,277%), который перед использованием следует инкубировать на водяной бане при температуре 37 °C в течение, как минимум, 10 мин.

1.2. Приготовление рабочего раствора буфера трис-HCl

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный буфер трис-HCl развести в пробирке дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды). В результате получают рабочий раствор буфера трис-HCl.

1.3. Приготовление рабочего раствора уксусной кислоты

В день исследования, в соответствии с потребностью, 10%-раствор уксусной кислоты развести в пробирке дистиллированной водой в 10 раз (1 объем концентрированного раствора + 9 объемов воды). В результате получают рабочий 1%-раствор уксусной кислоты.

1.4. Приготовление рабочей суспензии каолина

Содержимое флакона с суспензией каолина количественно перенести из флакона в мерный цилиндр и общий объем довести дистиллированной водой до 100 мл. В результате получают рабочую 0,05 % суспензию каолина.

1.5. Приготовление стрептокиназы

Во флакон со стрептокиназой внести 5,0 мл растворителя для стрептокиназы и растворить содержимое при комнатной температуре (18-25 °C) и легком покачивании в течение 6 мин. В результате получают маточный раствор стрептокиназы (5000 МЕ/мл).

Для приготовления рабочего раствора стрептокиназы смешать в пробирке 0,1 мл маточного раствора стрептокиназы с 0,2 мл физиологического (0,9%) раствора натрия хлорида.

1.6. Приготовление тромбина

Во флакон с тромбином внести 10 мл физиологического (0,9 %) раствора натрия хлорида и растворить содержимое при комнатной температуре (18-25 °C) и легком покачивании в течение 3 мин. В результате получают рабочий раствор тромбина.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

2.1. Определение ХПа-калликреин-зависимого фибринолиза

Получение активированной каолином фракции эуглобулинов исследуемой плазмы

1. В пробирке последовательно смешать 0,5 мл исследуемой плазмы, 7,5 мл дистиллированной воды, 0,25 мл рабочей 0,05 % суспензии каолина и 0,18 мл 1 % уксусной кислоты.
2. Смесь инкубировать на водяной бане при температуре +37 °C в течение 30 мин.
3. Провести центрифугирование смеси в течение 5-6 мин при 1500 об/мин (600 g).
4. Надосадочную жидкость слить, пробирку опрокинуть на фильтровальную бумагу и осушить в течение одной минуты.
5. Оставшийся на дне пробирки эуглобулиновый осадок развести в 0,5 мл рабочего раствора буфера трис-HCl.

Определение времени каолин-активированного лизиса сгустка эуглобулинов

1. К 0,5 мл раствора эуглобулинов в пробирке добавить 0,5 мл 0,277 % раствора кальция хлорида, осторожно перемешать покачиванием пробирки в течение 1 мин (не встряхивая!).
2. Инкубировать на водяной бане при температуре +37 °С.
3. Регистрируют время с момента добавления кальция хлорида до полного (при +37 °С) растворения сгустка.

В нормальной плазме время XIIa-зависимого эуглобулинового лизиса составляет 4-10 мин.

2.2. Определение спонтанного эуглобулинового фибринолиза

Получение эуглобулиновой фракции исследуемой плазмы

1. В пробирке последовательно смешать 8,0 мл дистиллированной воды, 0,18 мл 1%-раствора уксусной кислоты и 0,5 мл исследуемой плазмы. Компоненты смешать переворачиванием пробирки.
2. Инкубировать смесь в сосуде с водой, охлажденной до температуры 4-8 °С, в течение 30 мин.
3. Полученную смесь центрифугировать в течение 5-6 мин при 1500 об/мин (600 g).
4. Надосадочную жидкость слить, пробирку опрокинуть на фильтровальную бумагу и осушить в течение одной минуты.
5. Оставшийся на дне пробирки осадок эуглобулинов развести в 0,5 мл рабочего раствора буфера трис-HCl.

Определение времени спонтанного лизиса сгустка эуглобулинов

1. К 0,5 мл раствора эуглобулинов в пробирке добавить 0,5 мл 0,277 % раствора кальция хлорида, осторожно перемешать покачиванием пробирки в течение 1 мин (не встряхивая!).
2. Инкубировать смесь на водяной бане при 37 °С.
3. Регистрируют время с момента добавления кальция хлорида до полного (при 37 °С) растворения сгустка.

В нормальной плазме время спонтанного лизиса эуглобулинов составляет 180-240 мин.

2.3. Определение индуцированного стрептокиназой эуглобулинового фибринолиза

Получение эуглобулиновой фракции исследуемой плазмы провести в соответствии с методикой, указанной в разделе 2.2.

Определение времени индуцированного стрептокиназой лизиса сгустка

1. В пробирке 0,5 мл раствора эуглобулинов, предварительно прогретого на водяной бане при 37 °С в течение 2 мин, смешать с 0,1 мл раствора стрептокиназы и 0,1 мл раствора тромбина, имеющих температуру 18-25 °С.

2. Регистрируют время с момента добавления тромбина до полного (при 37 °С) растворения сгустка.

В нормальной плазме время индуцированного стрептокиназой эуглобулинового лизиса составляет 75-85 с.

Определение индекса резерва плазминогена (ИРП).

Индекс резерва плазминогена (ИРП) определяют по формуле:

$$ИРП = \frac{ЛИС_{К}}{ЛИС_{И}} \times 100\%$$

где: ИРП – индекс резерва плазминогена;

ЛИС_К – среднее время лизиса эуглобулинов в контрольной плазме;

ЛИС_И – время лизиса эуглобулинов в исследуемой плазме.

В нормальной плазме индекс резерва плазминогена составляет 90-110%.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Хранение набора должно проводиться при температуре 2-8 °С в течение всего срока годности набора (18 мес). Допускается хранение при температуре до 25 °С в течение 10 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 2 месяцев с момента вскрытия его компонентов.

Концентрированный раствор кальция хлорида после вскрытия флакона можно хранить при температуре 2-8 °С не более 2 мес. при условии достаточной герметизации флакона.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при температуре 37 °С не более 4 ч, не более 1 дня при комнатной температуре (18-25 °С) или не более 2 дней - при температуре 2-8 °С.

Рабочий раствор буфера трис-HCl можно хранить при температуре 2-8 °С не более 7 сут.

Рабочий раствор уксусной кислоты можно хранить при температуре 2-8 °С не более 2 сут.

Рабочую суспензию каолина можно хранить при температуре 2-8 °С не более 2 мес.

Рабочий раствор стрептокиназы можно хранить при комнатной температуре (18-25 °С) не более 1 сут или не более 2 сут - при температуре 2-8 °С.

Рабочий раствор тромбина можно хранить при температуре 2-8 °С не более 1 мес.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора Фибринолиз-тест, следует обращаться:

1. ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39 или
2. Испытательный лабораторный центр ФГУ «НИИ ФХМ» ФМБА России по адресу: 119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; тел.: (499) 246-44-01; 246-44-09.

Директор ООО фирмы

«Технология-Стандарт» д.м.н., проф.

А.П. Момот

Зам. директора ООО фирмы

«Технология-Стандарт» к.м.н., доц.

И.И. Шахматов

Мед. испытания проведены:

Главный врач НУЗ Отделенческая

клиническая больница на ст. Барнаул

ОАО «РЖД» к.м.н.



А.Г. Зальцман

Прошито, пронумеровано и скреплено
печатью 4 (силь) листов
Руководитель Директор
Ю.И. Сидор И.И. Сидор
«20» 04 20 12 г.

