

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 определения фибринолитической активности плазмы крови ручным методом.

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. Определения фибринолитической активности плазмы крови проводится с целью диагностики ДВС-синдрома и нарушений функционирования плазменных протеолитических систем при различных видах патологии (панкреатит, тиреотоксикоз, патология беременности, онкологические заболевания, поражение печени и др.). 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.

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

НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ ТЕСТА

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 флакон;
Уксусная кислота, 1% раствор - 10 мл/флакон – 1 флакон;
Каолин 0,5% суспензия в дистиллированной воде - 5,0 мл/флакон – 2 флакона;
Кальций хлористый 0,025 М раствор - 10 мл/флакон – 2 флакона.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 40 анализов.

Принцип метода. 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 и не содержащей 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

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. 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.

Точность

Время лизиса фибринового сгустка в нормальной плазме при температуре 37°C составляет 5 – 12 минут.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения XIIa-зависимого фибринолиза в одной пробе плазмы одним набором не превышает 10%. Допустимый разброс результатов при определении 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.

Ограничения метода. 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.

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 длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирусы гепатита В и С или любой 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;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М) или
- 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;
- вода дистиллированная;
- 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, примесь 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°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 исследуемая (плазма контрольная)	0,5
Каолин 0,5% суспензия	0,2
Перемешать и инкубировать полученную смесь при 37°C 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) зуглобулинового сгустка.

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

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

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.

Нормальные и патологические значения ХIIа-зависимого фибринолиза следует контролировать с помощью реагента «Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009» производства МБООИ «Общество больных гемофилией», номер по каталогу 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°C. Вскрытые компоненты набора можно хранить в плотно укупоренном состоянии при температуре от плюс 2 до плюс 8°C не более 30 суток.

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

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора ХIIа-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 ХIIа-зависимый фибринолиз с использованием образцов плазмы крови пациентов и наборы с истекшим сроком годности относятся к отходам класса 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.

Вывоз отходов класса Б для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Б 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

Дата утверждения инструкции 20 апреля 2007 г.

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.

ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

- ГОСТ Р 51088-2013. Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.
- ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
- ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация. Предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
- ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
- ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.
- ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции.
- ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия.
- ГОСТ Р ЕН 13612-2010 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ЕН 13641-2010 Устранение или снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro.
- Приказ Минздрава России от 19.01.2017 г №11н «Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинских изделий».

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 (804)333-22-61, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru, www.renam.ru.