

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для определения плазминогена фотометрическим методом (Реахром-плазминоген) по ТУ 9398-270-05595541-2010».

### НАЗНАЧЕНИЕ

**Предназначенное применение.** Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Набор реагентов для определения плазминогена фотометрическим методом по ТУ 9398-270-05595541-2010 (сокращенное наименование Реахром-плазминоген) предназначено для количественного определения активности плазминогена в плазме крови фотометрическим методом с использованием хромогенного субстрата.

**Предназначенный пользователь.** Определение активности плазминогена с помощью набора Реахром-плазминоген может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

### Диагностическая роль.

Количественное определение плазминогена в плазме крови необходимо для диагностики тромбозов, вызванных дефицитом или аномалиями этого белка, для выявления ДВС-синдрома и для контроля за лечением фибринолитиками.

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

### НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ ТЕСТА

Плазмин – активный фермент, принимающий участие как в первичном, так и во вторичном фибринолизе, в больших количествах циркулирует в плазме в виде своего неактивного предшественника плазминогена. Потребление плазминогена наблюдается как при первичном, так и при вторичном фибринолизе. Вторичный фибринолиз, связанный с диссеминированным внутрисосудистым свертыванием является наиболее важной причиной потребления плазминогена. С другой стороны первичный фибринолиз, включающий только фибринолитический механизм, также вызывает потребление циркулирующего фермента.

### ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

#### Состав набора

Стрептокиназа, лиофильно высушенная, объем после восстановления 2,0 мл/флакон - 2 флакона;

Плазма-калибратор, лиофильно высушенная, объем после восстановления 1,0 мл/флакон - 1 флакон;

Хромогенный субстрат, лиофильно высушенный, объем после восстановления 2,0 мл/флакон - 2 флакона;

Буфер концентрированный – 5,0 мл/флакон - 1 флакон.

#### Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 40 определений ручным методом, 100 определений на коагулометрах Sysmex и 70 определений на коагулометрах ACL (IL).

#### Принцип метода

Метод определения активности плазминогена основан на его способности образовывать комплекс со стрептокиназой, который гидролизует пептидный хромогенный субстрат. Количество высвобождаемого при этом пара-нитроанилина (pNA) прямо пропорционально активности плазминогена в анализируемой пробе.

Процесс идет по следующей схеме:

Плазминоген + стрептокиназа (избыток) ⇒ Комплекс

Комплекс + Пептид-pNA ⇒ Пептид + pNA (желтый)

### МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КАЛИБРАТОРУ

Активность плазминогена в плазме-калибраторе устанавливается при аттестации каждой серии против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против пула донорской плазмы, полученного от не менее 100 здоровых доноров.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### Аналитическая специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения плазминогена: билирубин в концентрации до 0,2 г/л, свободный гемоглобин – до 2 г/л, триглицериды – до 10 г/л. При превышении указанных концентраций возможно получение ложно завышенных результатов. При терапии апротеинином могут быть получены ложно заниженные результаты.

#### Точность

Активность плазминогена в плазме-калибраторе – в пределах 80 - 110%. Точное значение активности плазминогена в плазме-калибраторе указано в паспорте медицинского изделия. Допустимое отклонение активности плазминогена в плазме-калибраторе от аттестованного значения не превышает 10%.

#### Чувствительность

Минимальная активность плазминогена, определяемая набором Реахром-плазминоген – не более 10%.

#### Линейность

Линейность определения зависит от модели коагулометра. Отклонение от линейности в диапазоне активности плазминогена от 20 до 100% не более 10%.

Отклонение в тесте «открытия» не превышает 10%.

#### Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения активности плазминогена не превышает 10%. Допустимый разброс результатов определения активности плазминогена в одной пробе крови разными наборами одной серии не превышает 10%.

#### Диапазон определяемых значений активности

С помощью набора Реахром-плазминоген можно определить не менее 10% активности плазминогена. Верхний предел не ограничен.

#### Значения активности, соответствующие нормальным

Нормальный диапазон значений плазминогена, полученный при определении активности плазминогена набором Реахром-плазминоген у не менее 100 здоровых доноров, составляет 80-140%, что соответствует биологическому референтному интервалу [1].

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов Реахром-плазминоген предназначен только для диагностики *in vitro*. Класс потенциального риска применения набора – 2а.

Набор реагентов Реахром-плазминоген не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду и не представляет рисков, связанных с возможностью взрыва и возгорания.

При работе с набором и образцами крови 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).

Плазма-калибратор получен из плазмы крови человека, карантинизированной и проверенной на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg. Тем не менее, не следует исключать остаточного минимального риска при работе с набором, поскольку плазма крови человека является потенциально опасным биологическим материалом. При работе следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, так как 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 гепатита С или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

### ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Автоматический коагулометр открытого типа с оптической системой регистрации результатов реакции;
- спектрофотометр, ФЭК, биохимический или любой другой анализатор, имеющий длину волны для регистрации 405 нм;
- центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- термобаня с возможностью поддержания температуры 37±1°C;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- 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);
- уксусная кислота с концентрацией 50%;
- вода дистиллированная;
- мерный цилиндр;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

#### Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов Реахром-плазминоген предназначен для определения активности плазминогена в плазме человеческой крови.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать густки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

#### Процедура получения биологического материала

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% (0,109 моль/л) цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C в течение 15 минут при 3000 об/мин (1200g).

#### Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа – не более 4 часов при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C и не более 8 часов при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре от минус 18 до минус 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

**Стрептокиназа.** Во флакон с лиофильно высушенной стрептокиназой внести 2,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое осторожным покачиванием, не встряхивать!

#### Рабочий раствор стрептокиназы:

- для ручного метода: 1,0 мл Стрептокиназы+5,0 мл рабочего буферного раствора;
- для коагулометров Sysmex: 1,0 мл Стрептокиназы+5,0 мл рабочего буферного раствора;
- для коагулометров ACL IL: 2,0 мл Стрептокиназы+2,0 мл рабочего буферного раствора.

Растворы готовы к проведению анализа через 20 минут после разведения.

**Раствор хромогенного субстрата.** Во флакон с хромогенным субстратом внести 2,0 мл дистиллированной воды (для коагулометров Sysmex, ACL IL и ручного метода), растворить при осторожном покачивании. Готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

**Раствор плазмы-калибратора.** Во флакон с плазмой-калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

Время растворения лиофильно высушенных реагентов при комнатной температуре не превышает 3 минуты.

**Рабочий буферный раствор.** Буфер концентрированный развести в 20 раз (содержимое флакона перенести в мерную емкость, довести до 100 мл дистиллированной водой и тщательно перемешать). pH рабочего буферного раствора должен составлять от 7,35 до 7,45.

## ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Проведение анализа на автоматическом анализаторе

- Выбрать на коагулометре программу для определения плазминогена.
- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу Calibrate, калибровка прибора.
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу определения плазминогена.
- Считать результаты.

### Проведение анализа ручным методом

#### Построение калибровочного графика

Использовать только пластиковые пробирки. Приготовить серию разведений плазмы-калибратора:

Пробирка №	1	2	3	4
Активность плазминогена в %	1,0А*	0,5А	0,25А	0,125А
Рабочий раствор буфера, мл	1,4	0,7	0,7	0,7
Плазма-калибратор, мл	0,1	-	-	-
Перемешать и перенести в пробирку, мл				

\*А - активность плазминогена в плазме-калибраторе, указана в паспорте на набор.

С каждым разведенным раствором плазмы-калибратора с установленной активностью плазминогена, %, провести определение оптической плотности по методу, описанному ниже. На оси ординат (Y) по линейной шкале отложить величины оптической плотности, полученных для каждого разведения плазмы-калибратора, а на оси абсцисс (X) по линейной шкале отложить активность плазминогена в %. Калибровочный график должен представлять собой восходящую прямую линию. Калибровочный график должен быть построен для каждой серии реагентов.

### Проведение анализа.

Непосредственно перед проведением анализа развести исследуемую плазму рабочим буферным раствором в **15** раз по следующей схеме:  
0,1мл плазмы + 1,4мл буфера.

Анализ проводится в пластиковых пробирках, термостатируемых при 37°C, в соответствии со схемой:

Внести в пробирку:	Образец	Кювета сравнения
Рабочий раствор стрептокиназы, мкл	500	-
Разведенная плазма, мкл	500	-
Рабочий буферный раствор, мкл	-	1000
Перемешать и инкубировать при 37°C точно 5 мин.	-	-
Раствор хромогенного субстрата, мкл	100	-
Перемешать и инкубировать при 37°C точно 3 мин.	-	-
Уксусная к-та концентрированная, мкл	100	-

## РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

### При проведении анализа на автоматическом анализаторе

Автоматический анализатор регистрирует скорость нарастания оптической плотности при расщеплении хромогенного субстрата.

### При проведении анализа ручным методом

Измерить оптическую плотность образца против кюветы сравнения в оптическом канале анализатора или на спектрофотометре (ФЭКе) при длине волны 405 нм. По калибровочному графику определить активность плазминогена.

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Образцы с высоким уровнем активности плазминогена могут выйти за пределы линейности, что приводит к искажению результатов. Поэтому точные значения активности плазминогена для таких образцов могут быть получены при дополнительном разведении исходной плазмы в 2 раза буферным раствором для разведения образцов, используемым в соответствующем коагулометре. При определении вручную в этом случае исследуемую плазму следует развести в 30 раз. При этом полученный результат должен быть умножен на 2.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения активности плазминогена следует контролировать с помощью Плазмы контрольной (Реагента для контроля правильности определения параметров свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем по ТУ 9398-026-5595541-2009), код КМ-2.

## 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 в укупоренном виде в холодильнике при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается хранение при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание наборов не допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат!

Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укупоренном состоянии.

### Стабильность приготовленных реагентов

Реагенты	от плюс 2 до плюс 8°C	от плюс 18 до плюс 25°C	от минус 18 до минус 20°C
Рабочий раствор стрептокиназы	5 дней	2 дня	2 мес.
Раствор хромогенного субстрата	14 дней	2 дня	2 мес.
Раствор плазмы – калибратора	8 часов	4 часа	2 мес.
Рабочий буферный раствор	1 месяц	5 дней	Не замораживать!

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 Реахром-плазминоген требованиям Технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.

## МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с набором Реахром-плазминоген 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.

Отходы рабочего буферного раствора относятся к отходам класса А.

## СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

Символ	Наименование символа
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Биологический риск
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель

Дата утверждения инструкции 30 апреля 2010 г.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алан, Г.Б. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам / Г.Б. Алан. – М.: Лабора, 2013. – 1280 с.
2. Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушения гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 292 с.
3. Долгов В.В., Свириной П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. - М.-Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005. -227 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 ИСО18113-2-2015 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 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, сайт www.renam.ru