

Набор реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в плазме о-фенантролиновым методом.

Набор предназначен для экспресс-оценки содержания растворимых фибрин мономерных комплексов (РФМК) в плазме крови. Метод имеет большое диагностическое значение, так как является маркером тромбинемии, как одного из основных признаков диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома), а также тромбозов и эмболий. В отличие от широко используемых этанолового и протамин-сульфатного тестов о-фенантролиновый тест наиболее информативен и стандартизован. Он позволяет проводить динамический контроль за содержанием РФМК в плазме, в том числе в процессе лечения.

Принцип метода.

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

Состав набора.

О-фенантролин (100мг/фл.) - 4 фл.

Положительный контроль, лиофильно высушенный – 1фл.

Отрицательный контроль, лиофильно высушенный – 1фл.

Приготовление реагентов.

1. Рабочий 0.78%-ный раствор о-фенантролина. Взвесить на аналитических или торсионных весах 78 мг о-фенантролина и растворить в 10 мл дистиллированной воды. Готов к проведению анализа через 15 минут после приготовления. Раствор может храниться в течение 7 дней при 2 - 8⁰С. Раствор, изменивший окраску с бесцветной на розовую непригоден для выполнения теста.

2. Положительный контроль. Внести во флакон 1.0 мл дистиллированной воды, слегка покачивая в течение 5 минут до полного растворения. Готов к проведению анализа через 15 минут после приготовления. Использовать в течение 4 часов. Возможно однократное замораживание при -20⁰С и хранение в течение 2 месяцев.

3. Отрицательный контроль. Внести во флакон 1.0 мл дистиллированной воды, слегка покачивая в течение 5 минут до полного растворения. Готов к проведению анализа через 15 минут после приготовления. Использовать в течение 4 часов. Возможно однократное замораживание при -20⁰С и хранение в течение 2 месяцев.

Получение исследуемой плазмы для анализа.

Венозную кровь взять в пластиковую или стеклянную силиконизированную пробирку на 3,8% (0.11моль/л) цитрате натрия (9:1), центрифугировать 7 мин при 1000 об/мин (240g), плазму перенести в другую пробирку и повторно центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 0,2 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 2 часов, при 2 - 8⁰С не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре - 20⁰С.

Проведение анализа.

Для проведения анализа необходимо использовать стеклянные пробирки предметное стекло.

Внести в пробирку или на предметное стекло	Объем
Раствор одного из контроля (исследуемая плазма)	100мкл
Рабочий раствор о-фенантролина	100мкл
В проходящем свете (можно использовать осветитель для микроскопа) на темном фоне при непрерывном покачивании пробирки регистрируют время от момента добавления о-фенантролина до начала появления первых хлопьев.	

Качественная оценка. При положительном контроле регистрируют появление "снежной бури" в течение первых 30 – 40 секунд после добавления о-фенантролина.

При отрицательном контроле не должно наблюдаться появление хлопьев в течение первых 120 секунд после добавления о-фенантролина.

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

Количественная оценка. При анализе исследуемой плазмы регистрируют время от момента добавления о-фенантролина до начала появления первых хлопьев.

Количество растворимых фибрин мономерных комплексов может быть оценено по таблице зависимости концентрации РФМК (г/л) от времени образования первых хлопьев.

Интерпретация результатов.

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

Меры предосторожности.

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики in vitro. Компоненты набора следует рассматривать, как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.

При работе с исследуемыми образцами следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

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/факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru

Таблица. Зависимость концентрации РФМК (г/л) от времени образования первых 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		

