

Венозную кровь взять в пластиковую пробирку на 3,8% (0.109моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови на 3,2% (0.109моль/л) цитрата натрия



## Набор реагентов для определения активности фибрин-стабилизирующего фактора (фактора XIII)

Фактор XIII, присутствующий в плазме в виде проэнзима, конвертируется в активный фермент на конечном этапе свертывающего каскада под действием тромбина в присутствии ионов  $Ca^{2+}$ . Активированный фактор XIII действует как трансамидаза, переводя водородные связи между двумя фибрин мономерами в стабильные пептидные связи. Он создает  $\epsilon$ -( $\gamma$ )-глутамил-лизининовые связи между этими мономерами. Эти реакции трансамидирования имеют место между  $\alpha$  и  $\gamma$  цепями фибрин мономеров, не затрагивая  $\beta$ -цепи. Фактор XIII – это  $\beta$ -глобулин с молекулярной массой 340 000 и содержанием в плазме 20–30 мг/л, синтезируется печенью. Фибрин стабилизирующая активность, кроме плазмы, найдена также в тромбоцитах и плаценте.

Снижение уровня фактора XIII наблюдается у больных с врожденным дефицитом, а также, как вторичный синдром при тяжелых поражениях печени, при сепсисе, лучевой болезни, после тяжелых операций. Клиническая картина дефицита фактора XIII проявляется в тяжелом геморрагическом синдроме, при этом продолжительность кровотечения может достигать 12 – 36 часов.

### Принцип метода.

Определение активности фактора XIII основано на оценке лизиса фибринового сгустка, содержащего различное количество исследуемого фактора XIII, в 5%-ой монохлоруксусной кислоте.

### Набор Фактор XIII-тест

код ФС-3

### Состав набора

1. Фибриноген, очищенный от XIII фактора (2 мл) – 2 флакона,
2. Суспензия каолина 1%-ая (10 мл) – 1 флакон,
3. Тромбин (2мл) – 2 флакон,
4. Кальция хлорида 0.1М раствор (5 мл) – 1 флакон,
5. Буфер имидазольный концентрированный (5мл) – 1 флакон,
6. Монохлоруксусная кислота 50% (7 мл) – 2 флакон,
7. Плазма-калибратор (1 мл) – 1 флакон.

### Приготовление реагентов:

**Рабочий буферный раствор.** Буфер имидазольный концентрированный (5 мл) перелить в мерную колбу вместимостью 100 мл и долить до метки дистиллированной водой (разведение в 20 раз), тщательно перемешать. Рабочий буферный раствор хранить при температуре +2-8<sup>0</sup>С не более 1 месяца.

**5%-ая монохлоруксусная кислота.** Развести содержимое флакона в 10 раз дистиллированной водой (1:9). Содержимое флакона перенести в мерный цилиндр и довести дистиллированной водой до 70 мл. Хранить при 2-8<sup>0</sup>С в течение 1 месяца.

**Суспензия каолина, 1%-ая.** Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед проведением анализа встряхивать. Хранить при 2-8<sup>0</sup>С в течение 1 месяца.

**Раствор фибриногена.** Внести во флакон с лиофильно высушенным фибриногеном 2 мл дистиллированной воды и растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

**Тромбин-кальциевая смесь.** Внести во флакон с тромбином 2мл кальция хлорида 0,1М раствора и растворить при осторожном покачивании. Смесь готова к проведению анализа через 20 минут после разведения.

**Плазма-калибратор.** Внести во флакон с плазмой-калибратором 1мл дистиллированной воды и растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

### Стабильность реагентов.

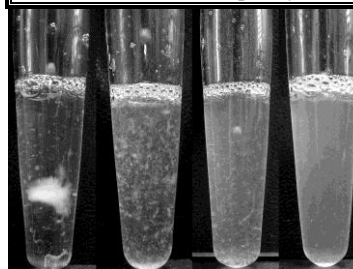
Реагенты	+2-8 <sup>0</sup> С	+18-22 <sup>0</sup> С	-18-20 <sup>0</sup> С
Раствор фибриногена	8 часов	4 часа	-
Тромбин-кальциевая смесь	8 часов	4 часа	2 мес.
Раствор плазмы-калибратора	8 часов	4 часа	

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 1,0 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при 2 - 8<sup>0</sup>С не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре - 20<sup>0</sup>С.

### Проведение анализа.

Плазму-калибратор и исследуемые образцы плазмы последовательно развести рабочим буферным раствором в 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 и 512 раз.

Внести в пробирку:	Объем
Одно из разведенных плазмы-калибратора (исследуемой)	100 мкл
Раствор фибриногена	100 мкл
Суспензия каолина	100 мкл
Тромбин-кальциевая смесь	100 мкл
Смесь инкубировать при 37 <sup>0</sup> С 30 минут.	
Внести в пробирки 5% монохлоруксусную кислоту	3 мл
Инкубировать 5 минут при 37 <sup>0</sup> С. Встряхнуть каждую пробирку.	



Зафиксировать то наименьшее разведение плазмы-калибратора и исследуемой плазмы, при котором фибриновый сгусток после инкубации с монохлоруксусной кислотой разрушается на мелкие фибриновые нити (см. рисунок).

### Интерпретация результатов.

Наименьшее разведение плазмы-калибратора, при котором фибриновый сгусток после инкубации с монохлоруксусной кислотой разрушается на мелкие фибриновые нити, обычно составляет 1:128 – 1:256. Уровень фактора XIII можно рассчитать по формуле:

$$A_{пл} = \frac{T_{пл}}{T_k} \times A_k, \quad \text{где}$$

$A_{пл}$  - активность фактора XIII в исследуемой плазме в %;

$A_k$  - активность фактора XIII в плазме-калибраторе в % (указано в паспорте);

$T_{пл}$  – титр исследуемой плазмы;

$T_k$  – титр плазмы-калибратора.

В нормальной плазме здоровых лиц уровень активности фактора XIII составляет 60 – 150%.

### 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.

### Контроль качества.

Нормальные и патологические значения фактора XIII следует контролировать с помощью контрольных плазм НПО РЕНАМ:

Плазма контрольная на 18 параметров код КМ-2

*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](mailto:info@renam.ru)*

