

**ИНСТРУКЦИЯ**

**по применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в плазме крови человека о-фенантролиновым методом (РФМК-тест) по ТУ 9398-279-05595541-2007»**

**НАЗНАЧЕНИЕ**

**Предназначенное применение.** Медицинское изделие для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в плазме крови человека о-фенантролиновым методом (РФМК-тест) по ТУ 9398-279-05595541-2007» (сокращенное наименование – РФМК-тест) предназначен для качественной и количественной оценки содержания РФМК в плазме крови методом их осаждения под действием о-фенантролина.

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

**Предназначенный пользователь.** Определение растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в плазме крови человека о-фенантролиновым методом может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

**Диагностическая роль.** 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. Он позволяет проводить динамический контроль содержания РФМК в плазме, в том числе при проведении антикоагулянтной терапии.

**ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА****Состав набора**

О-фенантролин - 100мг/флакон - 4 флакона

Положительный контроль – 1 мл/флакон - 1 флакон

Отрицательный контроль – 1 мл/флакон - 1 флакон.

**Число анализируемых проб биологического материала**

Один набор предназначен для проведения 400 определений РФМК при расходе 100 мкл раствора о-фенантролина на 1 анализ.

**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.

**АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ****Специфичность**

Следующие вещества не влияют на правильность определения РФМК: билирубин в концентрации не более 0,2 г/л, свободный гемоглобин – не более 2 г/л, триглицериды – не более 10 г/л, низкомолекулярный и нефракционированный гепарин – не более 2 МЕ/мл. При превышении указанных концентраций возможно получение ложно завышенных результатов.

**Чувствительность**

Минимальная концентрация РФМК, определяемая набором РФМК-тест, составляет  $3,5 \times 10^{-2}$  г/л.

При исследовании положительного контроля отмечается образование хлопьев фибрина на 5 - 10 секунде.

При исследовании отрицательного контроля отмечается отсутствие образования хлопьев фибрина в течение не менее 2 мин.

**Диапазон определяемых значений**

С помощью набора РФМК-тест можно определить концентрацию растворимых фибрин-мономерных комплексов в диапазоне от 3,5 до  $28 \times 10^{-2}$  г/л.

**Линейность определения в диапазоне определяемых активностей**

Метод определения РФМК не линеен.

**Значения концентраций, соответствующие нормальным**

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

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Набор реагентов РФМК-тест предназначен только для диагностики in vitro. Класс потенциального риска применения набора – 2б.

Набор реагентов РФМК-тест 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).

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.

Отрицательный и положительный контроли получены из плазмы крови человека, карантинизированной и проверенной на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg. Тем не менее их следует рассматривать как потенциально вирус-опасные.

**ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

- Центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- осветитель для микроскопа;
- лупа;
- пипетки вместимостью 0,1; 1,0 и 10,0 мл;
- пробирки пластиковые или стеклянные;
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

**АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ****Вид анализируемого биологического материала**

Набор реагентов РФМК-тест предназначен для определения концентрации растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме крови человека. 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% (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 2 часов при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C и не более 4 часов при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Не допускается замораживания плазмы

**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.

**ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ****Рабочий 0,78%-ый раствор о-фенантролина.**

Взвесить на аналитических или торсионных весах 78 мг о-фенантролина и растворить в 10 мл дистиллированной воды при осторожном покачивании.

Или растворить содержимое флакона в 12,5 мл дистиллированной воды.

Перед использованием раствор с о-фенантролином нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20 минут.

**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 температуре минус 20°C и хранение в течение 2 месяцев.

**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 температуре минус 20°C и хранение в течение 2 месяцев.

**ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Для проведения анализа необходимо использовать стеклянные пробирки.

Внести в пробирку	Объем
Раствор одного из контролей (исследуемая плазма), мкл	100
Рабочий раствор о-фенантролина, мкл	100

**РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

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 (для удобства наблюдения можно воспользоваться лупой).

**УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ**

**Качественная оценка.** При положительном контроле регистрируют появление "снежной бури" в течение первых 10 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.

#### 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. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат!

Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно укупоренном состоянии.

#### Стабильность приготовленных реагентов

Реагенты	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C
Раствор о-фенантролина	30 суток	2 суток	-
Положительный контроль	4 часа	2 часа	2 месяца
Отрицательный контроль	4 часа	2 часа	2 месяца

Транспортирование наборов должно осуществляться при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов в соответствии с правилами перевозок, действующими на данном виде транспорта. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание допускается.

#### ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора РФМК-тест 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 РФМК-тест с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу 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.

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 наборы реагентов РФМК-тест, не подлежащие использованию, и наборы с истекшим сроком годности относятся к отходам класса Г. Сбор и временное хранение отходов класса Г осуществляется в маркированные емкости («Отходы. Класс Г»). Диагностические средства собираются в одноразовую маркированную упаковку любого цвета (кроме желтого и красного) в соответствии с требованиями нормативных документов в зависимости от класса опасности отходов. Вывоз отходов класса Г для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Г 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
	Биологический риск
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель

#### ЛИТЕРАТУРА

- Алан, Г.Б. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам / Г.Б. Алан. – М.: Лабора, 2013. – 1280 с.
- Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушения гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 292 с.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБОУ «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)

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

Время, сек	5-6	7	8	9	10	11	12
Концентрация, г/л×10 <sup>-2</sup>	28	26	24	22	21	19	17
Время, сек	13	14	15	16	17-18	19-20	21-23
Концентрация, г/л×10 <sup>-2</sup>	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×10 <sup>-2</sup>	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×10 <sup>-2</sup>	5.5	5.0	4.5	4.0	3.5		