УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО фирмы
«Технология-Стандарт»
_____ А.П. Момот
«10» сентября 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме крови
(РФМК-тест)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме крови (РФМК-тест) предназначен для количественного определения в плазме крови растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), являющихся маркерами внутрисосудистого свертывания крови при тромбозах, тромбоэмболиях, ДВС-синдромах различного генеза.

Набор предназначен только для профессионального использования специалистами в области лабораторной диагностики: заведующими лабораториями, врачами КЛД, врачами-лаборантами, медицинскими лабораторными техниками (фельдшер-лаборант), лаборантами, медицинскими технологами.

Область применения набора: клиническая лабораторная диагностика, клиническая медицина.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Принцип метода определения РФМК в плазме крови заключается в появлении в плазме, содержащей РФМК, зёрен (паракоагулята) фибрина после добавления к ней раствора орто-фенантролина гидрохлорида.

Состав набора (варианты комплектации):

Комплектация № 1 (кат. № 081):

1. Орто-фенантролина гидрохлорид, 70 мг - 2 фл.

2. Контроль-минус (лиофилизированная плазма крови человека, не содержащая РФМК), на 1 мл - 1 фл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Контроль-плюс (лиофилизированная плазма крови человека, содержащая РФМК), на 1 мл - 1 фл.

Комплектация № 2 (кат. № 007):

1. Орто-фенантролина гидрохлорид, 70 мг (реактив расфасован в 96 лунках планшета) – 1 планшет.

2. Контроль-минус (лиофилизированная плазма крови человека, не содержащая РФМК), на 1 мл – 1 фл.

3. Контроль-плюс (лиофилизированная плазма крови человека, содержащая РФМК), на 1 мл – 1 фл.

4. Палочка для перемешивания – 1 шт.

5. Копьё-скарификатор – 1 шт.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

При исследовании контрольной плазмы, не содержащей РФМК (Контроль-минус), отмечается отсутствие паракоагуляции в течение 60 с.

При исследовании контрольной плазмы, содержащей РФМК (Контроль-плюс), отмечается наличие паракоагуляции в пределах от 5 до 30 с.

Допустимое отклонение времени паракоагуляции от аттестованного значения – не более 10 %.

Коэффициент вариации результатов определения времени паракоагуляции – не более 10 %.

Допустимый разброс результатов определения времени паракоагуляции в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии – не более 10 %.

Тест не чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

Набор реагентов используется только для применения in vitro.

Реагенты, входящие в состав набора, в используемых концентрациях не токсичны.

Набор не содержат антитела к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- Центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- осветитель для микроскопа;
- дозаторы пипеточные вместимостью 0,05-0,2, 0,1-1,0 и 10,0 мл;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 g в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Внимание! Тест особо чувствителен к погрешностям при получении крови. Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование - сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови. Указанные погрешности приводят к «внутрипробирочному» образованию РФМК и завышению результатов определений.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Разведение о-фенантролина в планшетном варианте исполнения

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После надреза и удаления с помощью скарификатора участка пленки над одной из лунок планшета, в лунку при комнатной температуре (+18... +25 °С) внести 0,25 мл дистиллированной воды. После перемешивания стеклянной палочкой в течение 10-15 с получают раствор орто-фенантролина гидрохлорида (далее по тексту - фенантролина).

1.2. Разведение о-фенантролина во флаконном варианте исполнения

В один из двух флаконов с орто-фенантролина гидрохлоридом (далее по тексту - фенантролином) внести 10,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и периодическом покачивании до полного растворения реагента. В результате получают раствор фенантролина. Перед использованием раствор с фенантролином должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 15 мин. Аналогично, по мере необходимости, развести содержимое второго флакона с фенантролином.

1.3. Разведение контрольных плазм (Контроль-плюс и Контроль-минус)

Во флакон с плазмой, содержащей РФМК (Контроль-плюс), внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и периодическом покачивании до полного растворения реагента. Аналогично развести содержимое флакона с плазмой, не содержащей РФМК (Контроль-минус). Перед использованием контрольные плазмы должны быть выдержаны при комнатной температуре в течение 15 мин.

Контрольная плазма разводится в день начала использования реагентов набора и служит для проверки правильности выполнения анализа. Используется в течение 1 ч после разведения в условиях хранения при комнатной температуре.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Определения проводят при комнатной температуре (+18... +25 °С) смешиваемых реагентов.

К 0,1 мл исследуемой плазмы крови, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл раствора фенантролина. Немедленно включить секундомер. При непрерывном покачивании пробирки в проходящем свете регистрируют время от момента добавления реагента до начала появления первых зерен фибрина (паракоагулята).

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Количественный учёт результатов определения РФМК в плазме крови[1]

Обычно в первые 120 с регистрируются хорошо видимые в проходящем свете зерна (паракоагулят) фибрина. Отметить время их появления в секундах и по таблице 1 определить количество РФМК в исследуемой плазме.

[1] Момот А.П., Елыкомов В.А., Баркаган З.С. Методика и клиническое значение паракоагуляционного фенантролинового теста. // Клиническая лабораторная диагностика. - 1996. - N 4. - С. 17-20.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 1

Перевод результатов (с) в количественное содержание РФМК в плазме

Время, с	Концентрация РФМК, мг/100 мл	Время, с	Концентрация РФМК, мг/100 мл
5-6	28,0	21-23	10,0
7	26,0	24-25	9,0
8	24,0	26	8,5
9	22,0	27-28	8,0
10	21,0	29-31	7,5
11	19,0	32-33	7,0
12	17,0	34-36	6,5
13	16,0	37-40	6,0
14	15,0	41-45	5,5
15	14,0	46-54	5,0
16	13,0	55-69	4,5
17-18	12,0	70-87	4,0
19-20	11,0	88-120	3,5
		свыше 120	3,0

В норме содержание РФМК в плазме составляет в среднем 3,38±0,02 мг/100 мл (или 3,38 мг%), с верхним пределом нормы 4,5 мг/100 мл (или 4,5 мг%).

Повышение уровня РФМК характерно для активации свертывания крови, причем, чем больше их концентрация, тем выше риск внутрисосудистого тромбообразования. Эффект от гепаринотерапии проявляется снижением ранее повышенного показателя.

Ложное завышение результатов теста наблюдается при дефектах в заборе крови, приводящих к активации свертывания *in vitro* (чаще всего при недостаточном перемешивании крови и цитрата натрия).

4. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества необходимо использовать контрольную плазму, содержащую РФМК (Контроль-плюс) и контрольную плазму, не содержащую РФМК (Контроль-минус), входящую в состав набора. Контрольные плазмы разводятся в день исследования и служат для проверки правильности выполнения анализа.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме крови (РФМК-тест) рассчитан на проведение 200 определений в комплектации № 1 и на 192 определения – в комплектации № 2, при расходе раствора фенантролина по 0,1 мл на 1 анализ.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Набор реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме крови (РФМК-тест) необходимо хранить при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора – **24 месяца** в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Допускается транспортировка набора при температуре до +30 °С в течение 30 суток транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, а также однократное замораживание.

Таблица 2

Условия хранения после вскрытия флаконов и приготовления реагентов

Температурный режим	Продолжительность хранения	
	Раствор орто-фенантролина гидрохлорида*	Контрольные плазмы
+37 °С	-	-
+18... +30 °С	Не более 2 недель	Не более 1 часа
+2... +8 °С	Не более 4 недель	-
- 20 °С	-	-

Примечание: * – для флаконного варианта исполнения.

Не следует смешивать реагенты из наборов разных серий.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ОТХОДОВ

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию медицинского изделия следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Медицинское изделие, не подлежащее использованию, а также с истекшим сроком годности относится к медицинским отходам класса А (СанПиН 2.1.3684-21), не содержащим потенциально опасные материалы и вещества (эпидемиологически безопасные отходы).

Все использованные одноразовые расходные материалы, образующиеся при работе с изделием, содержащие образцы плазмы крови пациентов, необходимо подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицин-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ского назначения»), как потенциально инфицированные медицинские отходы класса Б (СанПиН 2.1.3684-21). Сбор, временное хранение и вывоз таких отходов следует выполнять в соответствии со схемой обращения с медицинскими отходами, принятой в организации, осуществляющей медицинскую деятельность.

Реагенты, входящие в состав набора, не являются горючими и взрывоопасными. Сильное нагревание вторичной упаковки (коробки и блистера) может приводить к их возгоранию.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Безопасность, качество и эффективность изделия гарантируются производителем в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

МАРКИРОВКА ИЗДЕЛИЯ

На флаконах и упаковке изделия нанесены следующие символы:

IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*	SN	Серийный номер
	Температурный диапазон		Использовать до …

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов для определения растворимых фибрин-мономерных комплексов в плазме крови (РФМК-тест), следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. https://www.tehnologia-standart.ru, htpp://технология-стандарт.рф.

Версия инструкции 1.0.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru