



**Інструкція**  
**з використання набору реагентів для дослідження XIIa-калікреїн-**  
**залежного і спонтанного еуглобулінового фібринолізу**  
**ФІБРИНОЛІЗ-ТЕСТ**

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 400 визначень при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

**Призначення**

Набір Фібриноліз-тест призначений для дослідження фібринолізу при діагностиці та контролі за лікуванням тромбозів і ДВЗ-синдромів за такими методиками: визначення XIIa-калікреїн- залежного фібринолізу (XIIa-ЗЛ); визначення спонтанного еуглобулінового фібринолізу.

**Склад набору**

1. Суспензія каоліну (концентрована 10:1, 50 mg/ml (мг/мл), 10 ml (мл) - 1 фл.
2. Кальцію хлорид (концентрований 20:1 розчин 0.5 M), 10 ml (мл) - 1 фл.
3. Буфер трис-НСІ (концентрований 20:1 розчин, 1 M), 10 ml (мл) - 1 фл.
4. Оцтова кислота (10% розчин), 10 ml (мл) - 1 фл.
5. Інструкція з використання.
6. Паспорт.

**Перелік необхідного устаткування**

- центрифуга лабораторна;
- термобаня на 37°C;
- секундомір;
- піпетки місткістю 0.18, 0.2-1.0 і 5-10 ml (мл); циліндри мірні місткістю 100 і 200 ml (мл); пробірки скляні;
- фізіологічний (0.9%) розчин натрію хлориду;

**Підготовка зразків**

Кров для дослідження забирають з ліктьової вени в дві пластикові пробірки, що містять 3.2% розчин натрію лимоннокислого трьох заміщеного (цитрату натрію), співвідношення об'ємів крові і цитрату натрію - 9:1. Кров центрифугують при 3000-4000 г/min (об/хв) (1200 g) протягом 15 min (хв). В результаті отримують бідну тромбоцитами плазму, яку переносять в іншу пробірку, де зберігають до проведення дослідження. Центрифугування має проводитися безпосередньо після взяття крові, а відбір плазми на дослідження - відразу ж після центрифугування. Не допускається аналіз плазми, що має згустки, гемоліз, надлишок цитрату натрію і отриманої більше ніж 2 h (год) назад, а також замороженої плазми крові.

**1. Визначення XIIa-калікреїн-залежного фібринолізу**

**Принцип методу.**

В основу методу покладено факт прискорення лізису еуглобулінов, отриманих з обробленої каоліном бідної тромбоцитами плазми. З досліджуваної плазми виділяють еуглобулінову фракцію, в якій за допомогою каоліну активований "міст": "фактор XIIa → калікреїн плазміноген".

Визначають час еуглобулінового лізису при такій активації.

**Підготовка реагентів**

1. Приготування робочого розчину кальцію хлориду. У день дослідження, відповідно з потребою, концентрований розчин кальцію хлориду розвести дистильованою водою в 20 разів (1 об'єм концентрованого розчину + 19 об'ємів води), отримують робочий розчин кальцію хлориду (0.277%).
2. Розведення концентрованого буфера. Перед визначенням, відповідно з потребою, концентрований буфер трис-НСІ розвести дистильованою водою в 20 разів (1 об'єм концентрованого розчину + 19 об'ємів води), отримують робочий розчин буфера трис-НСІ.

3. Приготування робочого розчину оцтової кислоти. Перед визначенням, відповідно з потребою, 10% розчин оцтової кислоти розвести дистильованою водою в 10 разів (1 об'ємів концентрованого розчину + 9 об'ємів води), отримують робочий 1% розчин оцтової кислоти.

4. Суспензія каоліну. Вміст флакона з 10 ml (мл) концентрованої суспензії каоліну перенести в мірний циліндр і довести об'єм дистильованою водою до 100 ml (мл). В результаті отримують робочу 0.05% суспензію каоліну.

#### **Проведення аналізу**

1. Отримання активованої каоліном фракції еуглобулінів плазми. У пробірці послідовно змішати 0.5 ml (мл) плазми, 7.5 ml (мл) дистильованої води, 0.25 ml (мл) робочої 0.05% суспензії каоліну і 0.18 ml (мл) 1% оцтової кислоти. Суміш інкубувати на водяній бані при температурі 37°C протягом 30 min (хв), потім провести її центрифугування протягом 5-6 min (хв) при 1500 г/min (об/хв) надосадову рідину злити, пробірку перекинути на фільтрувальний папір і осушити протягом однієї хвилини. Еуглобуліновий осад, що залишився на дні пробірки, розвести в 0.5 ml (мл) робочого розчину буфера трис-НСІ.

2. Визначення часу каолін-активованого лізису згустку. До 0.5 ml (мл) розчину еуглобулінів в пробірці додати 0.5 ml (мл) 0.277% розчину кальцію хлориду, обережно перемішати погойдуванням пробірки (не струшуючи!) і інкубувати на водяній бані при температурі 37°C. Реєструють час з моменту додавання кальцію хлориду до повного (при 37°C) розчинення згустку.

#### **Оцінка результатів**

Результат виражають у хвилинах. В нормі, при використанні набору, час ХІа- залежного еуглобулінового лізису становить 4-10 min (хв). Уповільнення лізису спостерігається при порушенні внутрішнього ХІа-залежного фібринолізу за рахунок зниження рівня або недостатньої активації компонентів плазмових протеолітичних систем, що беруть участь в реакції (згортання, калікреїн-кінінової, фібринолізу). У зв'язку з високою лабільністю цих систем ХІа- ЗЛ може порушуватися при дуже багатьох видах патології - у більшості хворих тромбозами, при синдромі ДВЗ, захворюваннях печінки, імунних і імунокомплексних хворобах та ін. При ДВЗ-синдромі відзначається закономірне пригнічення ХІа-ЗЛ, яке починається вже в першій фазі цього процесу.

Подовження лізису (до 30-60 min (хв) і більше) частіше за все обумовлено наявністю в високому титрі інгібіторів фібринолізу, або дефіцитом плазміногену, рідше - фактору ХІІ, плазмового прекалікреїну або високомолекулярного кініногену. Для розмежування цих порушень в систему додатково вводять стрептокіназу або урокіназу. При дефіциті плазміногену вони істотно не прискорюють процес лізису, а при дефіциті інших компонентів системи - нормалізують його.

### **2. Визначення спонтанного еуглобулінового фібринолізу**

#### **Принцип методу.**

Визначають час спонтанного лізису згустку, одержаного з еуглобулінової фракції плазми при додаванні до неї розчину кальцію хлориду.

#### **Підготовка реагентів**

Див. розділ «Підготовка реагентів» методики визначення ХІа-калікреїн- залежного фібринолізу.

#### **Проведення аналізу**

1. Отримання еуглобулінової фракції плазми. У пробірці послідовно змішати 8.0 ml (мл) дистильованої води, 0.18 ml (мл) 1% оцтової кислоти і 0.5 ml (мл) плазми. Компоненти змішати перевертанням пробірки, яку потім інкубувати в посудині з водою, охолодженою до температури 2-8°C, протягом 30 min (хв)/ Потім суміш центрифугувати протягом 5-6 min (хв) при 1500 г/min (об/хв) надосадову рідину злити, пробірку перекинути на фільтрувальний папір і осушити протягом однієї min (хв)и. Осад еуглобулінів, що залишився на дні пробірки, розвести в 0.5 ml (мл) робочого розчину буфера трис-НСІ.

2. Визначення часу спонтанного лізису згустку. До 0.5 ml (мл) розчину еуглобулінів в пробірці додати 0.5 ml (мл) 0.277% розчину кальцію хлориду, обережно перемішати погойдуванням пробірки (не струшуючи!) і інкубувати на водяній бані при 37°C. Реєструють час з моменту додавання кальцію хлориду до повного (при 37°C) розчинення згустку.

#### **Оцінка результатів**

Результат виражають у хвилинах. В нормі час спонтанного лізису еуглобулінів становить 180-240 min (хв). Скорочення часу лізису свідчить про активацію, а подовження - про пригнічення фібринолізу. Метод може застосовуватися для вивчення потенційної здатності фібринолізу до активації "in vivo" при штучній стимуляції викиду з ендотелію в кров тканинного активатора плазміногену (ТПА). Для цього визначають час спонтанного еуглобулінового лізису плазми з крові, отриманої з вени до і після компресії судин кінцівки. Венозний стаз здійснюється шляхом накладення манжети

сфігмоманометра на плече і підтримки в ній мінімального АТ (80 мм рт. ст.) протягом 15-20 min (хв). Після закінчення цього терміну другу порцію крові беруть з ліктьової вени тієї ж руки до зняття манжети і в ній визначають спонтанний еуглобуліновий лізис. Час лізису згустку після венозного стазу коротшає в нормі в 1.5 - 2 рази, а при недостатньому виході в кров ТПА - залишається подовженим.

#### **Зберігання та стабільність**

Набір розрахований на проведення 400 аналізів по одному з наведених тестів.

Зберігання набору повинно проводитися при температурі 2-8°C протягом усього терміну придатності набору 18 mth (міс). Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів. Заморожування не допускається.

Час використання набору не повинно перевищувати 2 mth (міс) з моменту розкриття його компонентів. Робочий розчин кальцію хлориду можна зберігати при кімнатній температурі 18-25°C не більше 1 d (доб) або не більше 2 d (доб) при температурі 2-8°C.

Робочий розчин буфера можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 1 wk (тижд).

Робочий (1%) розчин оцтової кислоти можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 2 d (доб).

Робочу суспензію каоліну можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 2 mth (міс).

Слід зазначити, що на результати еуглобулінових методів впливає зміна концентрації фібриногену у хворих. Гіперфібриногенемія сприяє подовженню часу лізису еуглобулінів, гіпофібриногенемія - вкорочення.

#### **Вимоги безпеки та утилізації**

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластинок проводити згідно з чинним законодавством.

#### **Транспортування**

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.


Допускається транспортування при середньодобової температурі 37°C не більше 72 h (год).

#### **Гарантії виробника**








1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 18 mth (міс) з дня виготовлення набору.

#### **Література**

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

 ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14,  
тел/факс: (057) 752-32-31, електронна адреса: [granumlab@gmail.com](mailto:granumlab@gmail.com)

#### **Символи на продукції**

 Виробник	<b>Виготовлено:</b> Дата виробництва	<b>Придатно до:</b> Термін придатності	<b>Серія:</b> Номер
серії  Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання		
 Берегти від сонячного світла	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Температурне	
обмеження  Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів			