

Set na stanovenie fibrín(ogén) degradačných produktov FDP Assay Kit - FDP Control Set – FDP Latex Reagent – FDP Sample Collection Tubes – Glycine Buffered Saline

I. POUŽITIE

Pacific Hemostasis Set na stanovenie fibrín(ogén) degradačných produktov, kontrolná sada, latexová reagentia, glycinový pufor a odberové skúmavky, sú určené na detekciu fibrinogén/fibrín degradačných produktov (FDP) v sére alebo v moči.

II. SÚHRN A PRINCÍP

Fibrinogén/fibrín degradačné produkty (FDP) sa nachádzajú v nízkych množstvách v sére všetkých zdravých jedincov. Je to odraz dynamiky normálneho fibrinolytického mechanizmu prítomného in vivo, ktorý kontroluje rozsah fibrínových depozít. Normálne množstvo FDP v sére dospelých je 4.9 ± 2.8 ug/ml (1). Ľahké zvýšenie sa môže objaviť po strese, telesnej záťaži a strachu (2).

Zvýšené množstvo FDP v sére môže byť spôsobené primárnym alebo sekundárnym rozpadávaním fibrinogénu sprevádzaným intenzívnym zrážaním krvi. Zvýšené množstvo FDP je spojené s takými trombotickými stavmi ako sú diseminované intravaskulárne zrážanie (DIC) (3), hlboká venózna trombóza (4), niektoré poruchy v tehotenstve (5,6), infarkt myokardu (7) a pľúcna embólia (8).

Moč obsahuje normálne menej než 0.25 ug FDP/ml (9). Zvýšené množstvo FDP v moči sa objavuje u pacientov trpiacich určitými typmi ochorenia obličiek ako je glomerulonefritída (10) a akútna rejeckia transplantátu.

Sada na stanovenie fibrín(ogén) degradačných produktov využíva metódu priamej latexovej aglutinácie ku stanoveniu prítomnosti zvýšených FDP v sére alebo moči. Latexové častice potiahnuté protilátkou proti ľudskému fibrinogénu sa zmiešajú s defibrinovaným nariedeným sérom alebo močom a aglutinácia sa odčíta makroskopicky.

III. Reagencie

Diagnostika je určená na použitie in vitro.

Všetky reagencie sa uschovávajú pri +2 až +8°C.

A. **Latexová diagnostika:** suspenzia polystyrénových latexových častíc senzibilizovaných králičou protilátkou proti ľudskému fibrinogénu. Obsahuje pufor a antiseptikum.

B. **Odberové skúmavky:** Na krv alebo moč. Skúmavky obsahujú Batroxobín, enzým podobný trombínu, ktorý rýchlo konvertuje fibrinogén na fibrínové vlákno. Batroxobín nie je inhibovaný antitrombínom III a heparínom (12, 13). Trypsínový inhibítor zo sójových bôbov zabraňuje plazmínovej degradácii fibrínového vlákna. Skúmavka tiež obsahuje antiseptikum.

C. **Glycinový pufor:** pufor s antiseptikom.

D. **Pozitívna FDP kontrola:** >1 ug/ml ľudského fibrinogénu v glycinovom pufre so stabilizátormi a antiseptikom.

E. **Negatívna FDP kontrola:** <1 ug/ml ľudského fibrinogénu v glycinovom pufre so stabilizátormi a antiseptikom.

Upozornenie: Latexová diagnostika, glycinový pufor, pozitívna a negatívna kontrola obsahujú azid sodný. Azid sodný tvorí v kyslom prostredí vysoko toxické zlúčeniny. Azid sodný môže byť toxický pri požití, ďalej pri kontakte s olovom alebo meďou v odpadovej inštalácii môžu vznikajú vysoko toxické a výbušné soli. K odstráneniu je nutné použiť veľké množstvo čistej vody.

Upozornenie: Všetky materiály, ktoré boli použité pri výrobe pozitívnej a negatívnej FDP kontrole boli vyšetrené na neprítomnosť HBsAg, anti-HCV a anti-HIV podľa doporučených metód FDA. Viac menej všetky produkty vyrábané z ľudskej krvi musia byť považované za potenciálne infekčné a pri manipulácii s nimi je nutné zachovávať predpísané podmienky bezpečnosti práce.

Neočakávané výsledky a odlišné sfarbenie diagnostiky môžu znamenať poškodenie výrobku. FDP odberové skúmavky môžu zlyhať pri odbere >2ml krvi v prípade úniku vákua z kompatibilného odberového systému.

IV. VZOROVÝ ODBER

Krv

- A. Skúmavka sa plní pokým sa vákuum nevyčerpá a prúd krvi sa nezastaví. FDP odberové skúmavky by sa mali naplniť 2 ml krvi. Presný objem odobratej krvi sa môže meniť, ale mal by byť 2 ml. Skúmavky sa môžu plniť tiež ručne, zátkou sa odoberie a skúmavka sa naplní 2 až 3 ml krvi. Po odbere sa každá skúmavka zamieša niekoľkokrát jemným prevrátením.
- B. Skoro po odbere krvi by sa malo v skúmavke objaviť fibrínové vlákno. Separácia séra sa môže urýchliť centrifugáciou pri nízkych otáčkach. Alebo sa vzorka zrazenej krvi obkruží, aby sa uľahčila retrakcia, a nechá sa stáť pri izbovej teplote 15 až 30 minút. U heparinizovanej krvi nedochádza k oneskorenej retrakcii.
- C. Najvhodnejšie je testovať oddelené sérum ihneď po separácii fibrínového vlákna, ale sérum sa môže testovať do 3 dní uchovávané pri teplote +2 až +8°C. Sérum sa nemrazí.

Moč

- A. Môže sa použiť iba čerstvý, nezakalený moč bez kontaminácie menštruačnou krvou.
- B. Požadované množstvo moču sa prenesie do odberovej skúmavky, ktorá sa uzavrie zátkou a zamieša sa niekoľkokrát obrátením.
- C. Vzorky moču sa testujú ihneď. Nemraziť!

V. POSTUP

Materiál:

Pacific Hemostasis Set na stanovenie fibrinogén degradačných produktov:

Latexová reagencia: kvapkacia fľaštička á 5 ml.

Pozitívna FDP kontrola: kvapkacia fľaštička á 2 ml.

Negatívna FDP kontrola: kvapkacia fľaštička á 2 ml.

Glycínový pufor: kvapkacia fľaštička á 100 ml.

Odberové skúmavky: 30 kusov

100 ks drevených miešacích tyčínok

jedno sklíčko so 6 jamkami

30 ks plastických pipiet.

Poznámka: Latexová reagencia (1 x 5 ml) Glycínový pufor (2 x 100 ml), a FDP odberové skúmavky (30 alebo 100) sa môžu objednať zvlášť. K dispozícii je tiež kontrolný set s 3 x 2 ml FDP pozitívnej kontroly a 3 x 2 ml FDP negatívnej kontroly.

Ďalšie požadované materiály

Sklenené alebo plastové skúmavky, stopky a pipety pre pridané riedenia.

- A. Pred testovaním sa vzorky zahrejú na izbovú teplotu.
- B. Čisté testovacie skúmavky sa označia 1:10 a 1:40 pre každú vzorku séra. Moč sa testuje neriedený a riedený 1:10.
- C. Pomocou delenej kvapky sa prikvapne 0.45 ml glycínového puforu do skúmavky 1:10 a 2.0 ml do skúmavky 1:40.
- D. Plastikovou pipetou sa kvapne 1 kvapka (50 ul) do oboch označených skúmaviek.
- E. Plastiková pipeta sa premyje vodou a pomocou nej sa prenesie jedna kvapka z každého riedenia do jednotlivých jamiek na sklíčku.
- F. Do ďalších jamiek sklíčka sa kvapne kvapka pozitívnej a negatívnej kontroly.
- G. Latexová suspenzia sa dôkladne premieša obráteným uzáverom fľaštičky, alebo vortexom 2-3 sekundy.
- H. Pomocou kvapky sa kvapne ku každej kvapke na sklíčku 1 kvapka latexovej suspenzie.
- I. Drevenou miešacou tyčinkou sa rozmieša obsah každej jamky po celej ploche testovacej jamky.
- J. Testovacie sklíčko sa 3 minúty jemne nakláňa krúživým pohybom.
- K. Pod zdrojom priameho svetla sa skúma každá jamka na prítomnosť aglutinácie. Negatívne jamky by mali byť hladké bez vlákien. Všetky vzorky s hraničnou aglutináciou sa musia porovnať s jamkou s negatívnou kontrolou.

VI. VÝSLEDKY

Latexová diagnostika je citlivá na stanovenie 1 ug/ml FDP.

Moč			Sérum		
Neriedená	1:10	Správa	1:10	1:40	Správa
Negatívna	Negatívna	<1 ug/ml	Negatívna	Negatívna	<10 ug/ml
Pozitívna	Negatívna	>1 ug/ml	Pozitívna	Negatívna	10-40 ug/ml
Pozitívna	Pozitívna	>10 ug/ml	Pozitívna	Pozitívna	40 ug/ml












Pri kvantitatívnom stanovení sa pokračuje v sérii riedení tak, až sa dosiahne negatívneho výsledku. Pri hodnote FDP >320 ug/ml by sa mala zahájiť trombolytická liečba. Pri hodnotách >400 ug/ml sa v jamke s riedením 1:10 môže objaviť negatívna alebo slabo pozitívna aglutinácia (prozóna).

VII. OBMEDZENIA

- Falošne pozitívna aglutinácia sa môže objaviť u silne lipemických alebo bakteriálne kontaminovaných vzoriek.
- Falošne pozitívnu FDP reakciu môže spôsobiť i revmatoidný faktor (RF). Ako RF tak FDP spôsobuje aglutináciu, a preto sa nemôže vykonať priame hodnotenie FDP. Revmatoidný faktor sa môže odstrániť redukčným činidlom ako napr. dithiothreitolom alebo 2-mercaptoethanolom (14).
- Zamrazené vzorky môžu vykazovať arteficiálne zníženú hladinu FDP. Vzorky sa nemrazia.

VIII. VLASTNOSTI

- Presnosť:** 12 vzoriek séra s rozdielnymi hodnotami FDP bolo podrobených 10tim opakovaným stanoveniam s identickými titrami.
- Porovnávací metóda:** Korelačné štúdie vykonané nezávislými laboratóriami, ktoré porovnávali Pacific Hemostasis set s inými komerčne vyrábanými latexovými testami dávajú korelačný koeficient v rozpätí od 0.84 do 0.99.
- Vplyv heparínu:** Pacific Hemostasis Set na stanovenie FDP nie je ovplyvnený heparínom do 2.0 U/ml. Iné testy používajúce defibrináciu trombínom môžu stanovovať falošne zvýšené hodnoty FDP, v prítomnosti menej než 0.1 U/ml heparínu.

Symbols Key	Symboly	Symbols Key	Symboly
	Výrobca		In vitro diagnostický zdravotnícky prostriedok
	Číslo šarže		Spotrebujte do
	Označenie CE		Obmedzenie teploty
	Katalógové číslo		Pozrite sa do návodu na použitie
	Dátum balenia		Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve
	Upozornenie, pozrite sa do sprievodného listu		

Dovozca:



EXBIO Olomouc s.r.o.
Ovesná 14
779 00 Olomouc



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
UK



Fisher Diagnostics®
8365 Valley Pike
Middletown, VA 22645-0307, USA
1-(800)-528-0494 jen USA