

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____

№ _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ООО фирма

«Технология-Стандарт»

А. П. Момот

14 февраля 2012 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения волчаночного антикоагулянта
(Экспресс-Люпус-тест)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Экспресс-Люпус-тест предназначен для скрининга антикоагулянтов волчаночного типа. Наличие в крови волчаночных антикоагулянтов (ВА) сопровождается рецидивирующими тромбозами вен и артерий, нарушениями мозгового кровообращения, фетоплацентарной недостаточностью, привычным невынашиванием беременности, тромбоцитопенией, кровоточивостью микроциркуляторного типа, полиаллергией, другими иммунными нарушениями, склонностью к развитию ДВС-синдрома.

Набор рассчитан на проведение 50 анализов при расходе рабочих растворов реагентов по 0,1 мл на 1 анализ.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Проводится сравнительная оценка результатов определения в исследуемой плазме активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ) с двумя реагентами: высокочувствительным к ВА (АПТВ_{ВА+}) и низкочувствительным к ВА (АПТВ_{ВА-}). Наличие в плазме ВА ведет к сравнительно большему удлинению времени свертывания в тесте с АПТВ_{ВА+}, чем с АПТВ_{ВА-}-реагентом.

СОСТАВ НАБОРА:

1. АПТВ-реагент с низкой чувствительностью к ВА (АПТВ_{ВА-}-реагент) (лиофильно высушенный) - 2 фл.
2. АПТВ-реагент с высокой чувствительностью к ВА (АПТВ_{ВА+}-реагент), 5,0 мл - 1 фл.
3. Контрольная плазма, положительная на ВА (лиофильно высушенная) - 1 фл.
4. Кальция хлорид (концентрированный 20:1 раствор, 0,5 М), 2,0 мл - 1 фл.



КОПИЯ ВЕРНА
ООО фирма «Технология-Стандарт»
Директор А. П. Момот
11.03.2012г.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность определения времени свертывания с АПТВ_{ВА-} и АПТВ_{ВА+}-реактивами – в диапазоне от 25 до 150 с.

Коэффициент вариации результатов определения времени свертывания с АПТВ_{ВА-} и АПТВ_{ВА+}-реактивами не превышает 10%.

Допустимый разброс результатов определения времени свертывания с АПТВ_{ВА-} и АПТВ_{ВА+}-реактивами в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10%.

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2 а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны.

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

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- Коагулометр с блоком пробоподготовки и кюветами, при отсутствии коагулометра – секундомер;
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение 3000 об./мин (1200 g);
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 0,1$ °C (можно использовать термостат коагулометра);
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкостей 0,1 мл; 0,2-1,0;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические;
- цитратная бедная тромбоцитами плазма здорового человека, полученная в день исследования (контрольная нормальная плазма).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8% раствор натрия лимоннокислого 3-замещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 1000 об/мин (240 g) при комнатной температуре (18-25 °С) в течение 7 мин. Богатую тромбоцитами плазму переносят в другую пробирку и повторно центрифугируют при 3000 об/мин (1200 g) при комнатной температуре в течение 15 мин.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование - сразу после завершения повторного центрифугирования. Не допускается анализ плазмы крови, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад, а также замороженной плазмы крови.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

А. Приготовление АПТВ_{ВА}-реактента

В один из флаконов с лиофильно высушенным АПТВ_{ВА}-реактентом внести 2,5 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (18-25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Перед использованием раствор АПТВ_{ВА}-реактента должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 15 мин. Второй флакон с АПТВ_{ВА}-реактентом используют по мере необходимости.

Полученный раствор АПТВ_{ВА}-реактента можно хранить при комнатной температуре в течение 6 ч или не более 7 дней при температуре 2-8 °С.

Б. Приготовление АПТВ_{ВА+}-реактента

АПТВ_{ВА+}-реактент готов к использованию и не требует каких-либо разведений. Перед проведением исследований флакон с АПТВ_{ВА+}-реактентом необходимо встряхнуть и оставить при комнатной температуре.

В. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида развести в пробирке дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды) для получения рабочего раствора, который в последующем помещается в термостат и прогревается при температуре 37 °С в течение, как минимум, 10 мин.

Г. Приготовление контрольной плазмы, положительной на ВА

Во флакон с контрольной плазмой, положительной на ВА, внести 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (18-25 °С) и легком покачивании в течение 3 мин. Контрольная плазма, положительная на ВА, разводится в день исследования и служит для проверки правильности выполнения анализа.

Разведенную контрольную плазму, положительную на ВА, можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

А. Определение времени свертывания с АПТВ_{ВА+}-реагентом

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл плазмы пациента.

2. Инкубировать при температуре 37 °С в течение 1 мин.

3. Добавить 0,1 мл раствора АПТВ_{ВА+}-реагента, имеющего комнатную температуру.

4. Инкубировать при температуре 37 °С в течение 3 мин.

5. К смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (предварительно подогретого до 37 °С) и зарегистрировать время свертывания.

Результат обозначить как t_1 .

Аналогично, с применением АПТВ_{ВА+}-реагента, определить время свертывания в контрольной нормальной плазме. Результат обозначить как t_2 .

Б. Определение времени свертывания с АПТВ_{ВА-}-реагентом

1. В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл плазмы пациента.

2. Инкубировать при температуре 37 °С в течение 1 мин.

3. Добавить 0,1 мл разведенного АПТВ_{ВА-}-реагента, имеющего комнатную температуру.

4. Инкубировать при температуре 37 °С в течение 3 мин.

5. К смеси добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида (имеющего температуру 37 °С) и зарегистрировать время свертывания.

Результат обозначить как t_3 .

Аналогично, с использованием АПТВ_{ВА-}-реагента, определить время свертывания в контрольной нормальной плазме. Результат обозначить как t_4 .

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По полученным данным рассчитывают показатель NR по формулам:

$$R_1 = \frac{t_1}{t_2}; \quad R_2 = \frac{t_3}{t_4}; \quad NR = \frac{R_1}{R_2}$$

где: t_1 - время свертывания плазмы пациента с реагентом АПТВ_{ВА+};

t_2 - время свертывания контрольной нормальной плазмы с реагентом АПТВ_{ВА+};

t_3 - время свертывания плазмы пациента с реагентом АПТВ_{ВА-};

t_4 - время свертывания контрольной нормальной плазмы с реагентом АПТВ_{ВА-};

R_1 - показатель удлинения времени свертывания у пациента, в сравнении с контролем, в тесте с АПТВ_{ВА+}-реагентом;

R_2 - показатель удлинения времени свертывания у пациента, в сравнении с контролем, в тесте с АПТВ_{ВА-}-реагентом;

NR - отношение, количественно оценивающее гипокоагуляционный эффект ВА.

У здоровых людей и больных с разными видами патологии гемостаза, но без наличия в плазме крови ВА, показатель NR в среднем составляет 0,99 ($\sigma=0,10$), с пределами нормальных колебаний ($\pm 2\sigma$) от 0,79 до 1,19.

Диапазон значений NR от 1,2 до 1,3 является сомнительным результатом и требует повторного обследования, а также сопоставления с другими тестами для выявления ВА.

В тех случаях, когда NR равен или превышает 1,3, имеется высокая вероятность наличия в исследуемой плазме волчаночного антикоагулянта.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Хранение набора должно проводиться при температуре 2-8 °С в течение всего срока годности набора (18 мес). Допускается хранение при температуре до 25 °С в течение 10 сут. Замораживание не допускается.

Время использования набора не должно превышать 2 недель с момента вскрытия его компонентов.

Раствор АПТВ_{ВА+}-реагента можно хранить при комнатной температуре (18-25 °С) не более 7 дней или в течение всего срока использования набора при температуре 2-8 °С. Замораживание не допускается.

Раствор АПТВ_{ВА-}-реагента можно хранить при комнатной температуре не более 6 ч или не более 7 дней при температуре 2-8 °С. Замораживание не допускается.

Концентрированный раствор кальция хлорида можно хранить при температуре 2-8 °С не более 2 месяцев при условии герметизации флакона.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при 37 °С не более 6 ч, при комнатной температуре (18-25 °С) не более 1 дня или не более 2 дней в герметично закрытом флаконе при температуре 2-8 °С.

Не допускается сливание остатков рабочего раствора хлорида кальция после дня работы с герметично закрытым и хранящимся при температуре 2-8 °С раствором.

Контрольную плазму, положительную на ВА, можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению набора.

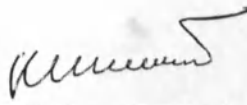
По вопросам, касающимся качества набора реагентов Экспресс-Люпус-тест, следует обращаться в:

1. ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39 или

2. Испытательный лабораторный центр ФГУ «НИИ ФХМ» ФМБА России по адресу: 119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; тел.: (499) 246-44-01; 246-44-09.

Директор ООО фирма

«Технология-Стандарт» д.м.н., проф.



А.П. Момот

Зам. директора ООО фирма

«Технология-Стандарт» к.м.н., доц.



И.И. Шахматов

Мед. испытания проведены:

Главный врач НУЗ Отделенческая

клиническая больница на ст. Барнаул

ОАО «РЖД» к.м.н.



А.Г. Зальцман

Прошито, пронумеровано и скреплено
печатью 6 (шесть) листов
Руководитель Директор
Синица
«11» 03 20 12 г.

