

Разведенный АПТВ-реагент можно хранить при комнатной температуре не более 6 ч и не более 1 недели при температуре +2... +8 °С.

Концентрированный раствор кальция хлорида после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2 месяцев.

Рабочий раствор кальция хлорида можно хранить при +37 °С не более 6 ч, при комнатной температуре - не более суток или не более 2-х дней при температуре +2... +8 °С. Не допускается сливание остатков этого раствора после дня работы с хранящимся при температуре +2... +8 °С раствором.

Разведенную контрольную плазму можно хранить при комнатной температуре не более 2 ч или не более 1 мес при температуре -16... -20 °С.

ЛИТЕРАТУРА

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.



Парус-тест

ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов для определения нарушений в системе протеина С

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Парус-тест предназначен для скрининга нарушений в системе протеина С. Тест определяет сочетанный или изолированный дефицит протеинов С и S, а также резистентность фактора V к активированному протеину С.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Протеин С - витамин К-зависимый гликопротеин, который синтезируется в печени и циркулирует в крови в виде профермента. Под действием активатора из яда щитомордника протеин С активируется и действует как антикоагулянт через протеолиз факторов Va и VIIIa в присутствии своего кофактора протеина S и фосфолипидов. Поэтому, после добавления активатора протеина С к нормальной плазме происходит удлинение времени свертывания. При недостаточном количестве протеина С, протеина S или при резистентности фактора Va к действию протеина С удлинение времени свертывания выражено в меньшей степени.

Состав набора:

1. Активатор протеина С (лиофильно высушенный ¹⁾) - 2 фл.
2. АПТВ-реагент (смесь фосфолипидов и эллаговой кислоты, лиофильно высушенная), на 2 мл - 4 фл.
3. Кальция хлорид (концентрированный 20:1 раствор, 0,5 М), 2 мл - 1 фл.
4. Контрольная плазма (лиофильно высушенная), на 1 мл - 2 фл.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Коэффициент вариации результатов определения не превышает 10 %.

Тест не чувствителен к присутствию в плазме крови гепарина до 0,3 ед./мл.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора - класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

Все реагенты, входящие в набор, используются только для применения *in vitro*.

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 В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- Центрифуга лабораторная;
- коагулометр (при отсутствии коагулометра - секундомер, термобаня на +37 °С);
- пипетки вместимостью 0,05, 0,1 и 1,0 мл;
- герметично закрывающиеся стеклянные или пластиковые (полистироловые) флаконы;
- пробирки стеклянные;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые хирургические.

Каталожный номер набора: **164**

ООО фирма "Технология-Стандарт"

656037, Барнаул, а/я 1351, тел./факс (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39, 27-13-00

¹ Патент РФ №2184976, приоритет от 30.11.2000.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование - сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз, избыток цитрата натрия и полученной более 2 ч назад.

Возможно исследование предварительно замороженных образцов плазмы (хранение при -16...-20 °C не более 1 мес).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

А. Разведение активатора протеина С

В один из флаконов с активатором внести *указанный в Паспорте* к набору объём дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °C) и легком покачивании в течение 1 мин. В результате получают раствор активатора протеина С.

Б. Разведение АПТВ-реагента

В один флакон с лиофильно высушенным АПТВ-реагентом внести **2,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и покачивании в течение 2 мин, после чего для гомогенизации пропипетировать полученную суспензию 10-12 раз без образования пены. Перед использованием разведенный АПТВ-реагент должен быть выдержан при комнатной температуре в течение 15 мин. Непосредственно перед применением разведенный АПТВ-реагент встряхнуть.

В. Приготовление рабочего раствора кальция хлорида

В день исследования, в соответствии с потребностью, концентрированный раствор кальция хлорида развести дистиллированной водой в 20 раз (1 объем концентрированного раствора + 19 объемов воды). Расход рабочего раствора реагента на 1 больного - не более 0,5 мл.

Г. Разведение контрольной плазмы

В один флакон с контрольной плазмой внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре и легком покачивании в течение 3 мин. Разведенную контрольную плазму разлить по 0,22-0,25 мл в пластиковые или стеклянные флаконы, которые затем закрывают и замораживают при -16... -20 °C. Второй флакон с контрольной плазмой использовать аналогично первому по необходимости.

В день проведения исследования использовать свежеразведенную контрольную плазму или контрольную плазму, размороженную при комнатной температуре.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

2.1. Исследование контрольной плазмы Для автоматических коагулометров:

- * 1. В настройках автоматического коагулометра указать следующую последовательность действий и объёмы: к 0,05 мл АПТВ-реагента добавить 0,025 мл **дистиллированной воды**.
- 2. В смесь добавить 0,05 мл контрольной плазмы.
- 3. Провести инкубацию смеси при +37 °C в течение 5 мин.
- 4. После инкубации в кювету добавить 0,05 мл рабочего раствора кальция хлорида и зарегистрировать время свертывания. Результат обозначить как **С(1)**.

- * 1. В настройках автоматического коагулометра указать следующую последовательность действий и объёмы: к 0,05 мл АПТВ-реагента добавить 0,025 мл **активатора протеина С**.
- 2. В смесь добавить 0,05 мл контрольной плазмы.
- 3. Провести инкубацию смеси при +37 °C в течение 5 мин.
- 4. После инкубации в кювету добавить 0,05 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °C, и зарегистрировать время свертывания. Результат обозначить как **С(2)**.

Для полуавтоматических коагулометров:

- * 1. К 0,1 мл АПТВ-реагента, взятого в кювету коагулометра, добавить 0,05 мл **дистиллированной воды**.
- 2. Затем к смеси добавить 0,1 мл контрольной плазмы.
- 3. Провести инкубацию содержимого кюветы в термостате коагулометра при +37 °C.
- 4. Через 5 мин инкубации в кювету добавить 0,1 мл рабочего

раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °C, и зарегистрировать время свертывания. Результат обозначить как **С(1)**.

- * 1. К 0,1 мл АПТВ-реагента, взятого в другую кювету коагулометра, добавить 0,05 мл **активатора протеина С**.
- 2. Затем к смеси добавить 0,1 мл контрольной плазмы.
- 3. Провести инкубацию содержимого кюветы в термостате коагулометра при +37 °C.
- 4. Через 5 мин инкубации в кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °C, и зарегистрировать время свертывания. Результат обозначить как **С(2)**.

Мануальный вариант:

- * 1. К 0,1 мл АПТВ-реагента, взятого в пробирку, добавить 0,05 мл **дистиллированной воды**.
- 2. Затем к смеси добавить 0,1 мл контрольной плазмы.
- 3. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °C.
- 4. Через 5 мин инкубации в пробирку добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °C, и включить секундомер.

5. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания при периодическом покачивании пробирки. Результат обозначить как **С(1)**.

- * 1. К 0,1 мл АПТВ-реагента, взятого в другую пробирку, добавить 0,05 мл **активатора протеина С**.

2. Затем к смеси добавить 0,1 мл контрольной плазмы.

3. Пробирку встряхнуть и поместить на водяную баню при температуре +37 °C.

4. Через 5 мин инкубации в пробирку добавить 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида, имеющего температуру +37 °C, и включить секундомер.

5. Достать пробирку из бани и отметить время свертывания при периодическом покачивании пробирки. Результат обозначить как **С(2)**.

Примечание: рекомендуется проводить исследования на коагулометре, что, в сравнении с мануальным вариантом, уменьшает разброс результатов.

2.2. Исследование плазмы больного

Выполняется аналогично исследованию контрольной плазмы (см. п. 2.1 – с использованием коагулометров по коагулометрическому или мануальному варианту), включает в себя определение времени свертывания в смеси плазмы больного с дистиллированной водой - **Б(1)** и в смеси плазмы больного с активатором протеина С - **Б(2)**.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По полученным данным рассчитывают нормализованное отношение (НО):

$$НО = \frac{C(1) \times Б(2)}{Б(1) \times C(2)} \times k$$

где: **С(1)** и **С(2)** - время свертывания в контрольной плазме с добавлением соответственно дистиллированной воды и активатора протеина С;

Б(1) и **Б(2)** - время свертывания в плазме больного с добавлением соответственно дистиллированной воды и активатора протеина С;

k - нормирующий коэффициент (см. Паспорт к набору реагентов Парус-тест).

В контрольной плазме (входящей в состав набора Парус-тест) время **С(1)** составляет **25-45 с** (в зависимости от техники определения), а **С(2)** превышает **70 с**.

НО в норме превышает 0,7. Все значения НО ниже 0,7 свидетельствуют о нарушениях в системе протеина С (недостаточное количество или аномалии протеина С, протеина S или резистентности фактора Va к действию протеина С).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Набор рассчитан на исследование **80** образцов плазмы при использовании автоматических и полуавтоматических коагулометров. При использовании мануальной техники определений и ряда полуавтоматических коагулометров число определений снижается до **40**.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °C в течение всего срока годности набора (**24 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °C в течение 30 сут.

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

Раствор активатора протеина С можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °C) не более 6 ч или при температуре +2... +8 °C не более 5 суток. Не замораживать.