



ИНСТРУКЦИЯ

Фасовка: *Лебетокс* (лиофильно высушенный) - во флаконе.

НАЗНАЧЕНИЕ

Коагулаза яда гюрзы (лебетокс) осуществляет запуск свертывания крови путем активации фактора X в присутствии ионов кальция и фактора V. Это действие усиливается фосфолипидным компонентом (плазменными фосфолипопротеидными мембранами, кефалином). При дефиците фактора X время свертывания в лебетоксовом тесте (ЛЕТ) удлиняется, а при дефиците фактора VII, в отличие от протромбинового теста, коагулирующий эффект лебетокса не ослабляется.

МЕРЫ

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения реагента – класс 2a (ГОСТ Р 51609-2000).

Раствор лебетокса используется только для применения *in vitro*.

При выполнении коагуляционных тестов 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.

Реагент в используемых концентрациях не токсичен.

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

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- Центрифуга лабораторная;
- секундомер,
- водяная баня на +37 °С;
- перчатки резиновые хирургические;
- пипетки вместимостью 0,1 и 0,2-1,0 мл;
- дистиллированная вода;
- свежеполученная цитратная бедная тромбоцитами контрольная плазма (применение РНП-плазмы ООО фирмы «Технология-Стандарт», лиофилизированной плазмы других производителей, а также замороженной плазмы крови не рекомендуется).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ ПЛАЗМЫ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную 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 г) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА К РАБОТЕ

Разведение лебетокса

Во флакон с лебетоксом внести указанный в *Паспорте* к реагенту объем дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 10 мин. В результате получают маточный раствор лебетокса.

Рабочий раствор лебетокса получают путем смешивания в пробирке 0,1 мл маточного раствора с указанным в *Паспорте* объемом дистиллированной воды. Активность полученного раствора проверяется в лебетоксовом тесте, как описано ниже. Время свертывания контрольной нормальной плазмы

должно составлять **20-30 с**. При другой активности рабочего раствора (менее 20 или более 30 с) в пробирку дополнительно ввести 0,1 мл маточного раствора лебетокса или требуемое количество дистиллированной воды, осуществляя подгонку активности лебетокса к нужному уровню.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. К 0,1 мл исследуемой бедной тромбоцитами цитратной плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл рабочего раствора лебетокса.

2. Пробирку встряхнуть и поместить на 30 с в водяную баню при температуре +37 °С.

3. К смеси добавить 0,1 мл 0,277 % раствора кальция хлорида (предварительно подогретого на водяной бане при температуре +37 °С) и включить секундомер. Отметить время свертывания (образования фибрина) при периодическом покачивании пробирки.

Аналогичное исследование провести на контрольной нормальной плазме (используется только свежеполученная бедная тромбоцитами плазма от практически здоровых людей).

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результат выражают в секундах, сравнивая время свертывания контрольной нормальной и исследуемой плазмы.

Совпадение результатов ЛЕТ в исследуемом и контрольном образцах плазмы (разница во времени свертывания не более 3 с) говорит об отсутствии дефицита фактора X, V, II и I (фибриногена).

Удлинение времени свертывания по ЛЕТ (в сравнении с контролем) более чем на 3 с, свидетельствует о возможном изолированном или сочетанном дефиците факторов X, V, II и (или) I. Для дифференциальной диагностики видов этой патологии проводят дополнительные исследования, включающие в себя протромбиновый тест, тест с ядом эфы (эзитоксом), анцистроном (аналогом рептилазы).

Удлинение времени свертывания по протромбиновому тесту при нормальном ЛЕТ свидетельствует о дефиците фактора VII.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Раствор лебетокса рассчитан на выполнение до **100 определений** ЛЕТ.

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

Маточный раствор лебетокса можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 1 мес, не замораживать.

Рабочий раствор лебетокса можно хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более 1 дня или не более 3 дней при температуре +2... +8 °С.

Внимание! Для ЛЕТ рекомендуется применять лабораторную посуду, которая маркируется и сушится отдельно от остальной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 2008. - 292 с.

2. Диагностика нарушений гемостаза с помощью змеиных ядов: Методические рекомендации МЗ СССР. - М. - 1988. / З.С. Баркаган и др.

3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. - СПб.: ФормаТ, 2006. - 208 с.

Каталожный номер реагента: **018**