



ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов для определения АДФ-агрегации тромбоцитов

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор применяется в качестве индуктора агрегации тромбоцитов при записи агрегатограмм. Используется для диагностики врожденных и приобретенных нарушений тромбоцитарного гемостаза, а также контроля за антиагрегантной терапией и др.

Набор предназначен только для профессионального использования.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Заключается в определении изменения оптических свойств богатой тромбоцитами плазмы в результате агрегации тромбоцитов под действием АДФ (принцип Борна). Для изучения агрегации, индуцируемой АДФ, используется агрегометр. После добавления АДФ в богатую тромбоцитами плазму начинается изменение её оптических свойств, что и регистрирует агрегометр.

Состав набора:

1. АДФ (лиофильно высушенный), 2 мг - 2 фл.
2. Растворитель для АДФ, 2,5 мл - 2 фл.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Коэффициент вариации результатов определения степени агрегации тромбоцитов на АДФ не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения степени агрегации тромбоцитов на АДФ в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

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, вирусы гепатитов или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

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

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ

- Агрегометр;
- пипетки вместимостью 0,05-0,2 и 0,2-1,0 мл;
- физиологический (0,9 %) раствор натрия хлорида;
- центрифуга лабораторная;
- пробирки или флаконы;
- перчатки резиновые хирургические.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в две пластиковые пробирки, содержащие 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Первую пробирку с кровью центрифугируют при 1000 об/мин (150-200 г) в течение 5 мин. В результате получают богатую тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования. Вторую пробирку центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 г) в течение 15 мин.

Каталожный номер набора: **030**

Так получают бедную тромбоцитами плазму, которая будет необходима для калибровки агрегометра.

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

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

В один из флаконов с АДФ внести **2,0 мл** растворителя для АДФ и развести содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) и легком покачивании в течение 2 мин. В результате получают маточный раствор АДФ (1 мг/мл), который хранят при температуре -16... -20 °С до 1 мес и размораживают по мере необходимости для приготовления рабочего раствора АДФ. Допускается многократное чередование замораживания и размораживания.

Второй флакон с АДФ развести после полного использования АДФ в первом флаконе.

Для приготовления рабочего раствора АДФ из маточного необходимо использовать таблицу 1.

Таблица 1
Схема приготовления рабочих растворов АДФ

№ раствора с АДФ	Соотношение смешиваемых физиологического (0,9 %) раствора хлорида натрия и раствора АДФ	Разведение маточного раствора	Конечная концентрация АДФ при агрегометрии (0,4 мл плазмы + 0,05 мл раствора АДФ)
1	0,9 мл + 0,1 мл маточного раствора	1:10	10,0 мкг/мл = 2×10^{-5} М
2	0,5 мл + 0,5 мл из раствора 1	1:20	5,0 мкг/мл = 1×10^{-5} М
3	0,5 мл + 0,5 мл из раствора 2	1:40	2,5 мкг/мл = $0,5 \times 10^{-5}$ М
4	0,5 мл + 0,5 мл из раствора 3	1:80	1,25 мкг/мл = $0,25 \times 10^{-5}$ М

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Запись агрегатограмм проводят в соответствии с инструкцией к агрегометру. При записи агрегации следует подчеркнуть целесообразность использования смешиваемых объемов, указанных в таблице 2.

Таблица 2
Адаптация для разных агрегометров

Агрегометр (производитель)	Богатая тромбоцитами плазма, мкл	Раствор АДФ, мкл
220LA, 230LA и аналогичные (НПФ "БИОЛА", Россия)	400	50
490-2D и аналогичные ("Chrono-log Corporation", США)	400	50
AggRAM ("Helena Biosciences", Великобритания)	225	25
AP-2110 (ЗАО "СОЛАР", Беларусь)	400	50
Другие	400	50

Во всех случаях параллельно с опытной пробой рекомендуется определять агрегацию тромбоцитов в свежеполученной контрольной нормальной богатой тромбоцитами плазме.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Необходимо отработать нормативные (контрольные) параметры агрегатограммы на образцах богатой тромбоцитами плазмы здоровых людей. Для агрегометров разных конструкций нормативы могут отличаться между собой.

Низкие значения агрегации тромбоцитов с АДФ встречаются при врожденной дисфункции тромбоцитарного гемостаза. Кроме того, снижение агрегации на АДФ нередко наблюдается на фоне применения антиагрегантов.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Набор реагентов, состоящий из АДФ и растворителя для АДФ, рассчитан на проведение до **1000 записей** агрегации тромбоцитов (агрегатограмм).

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности (**18 мес**). Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение

30 сут.

Маточный раствор АДФ можно хранить при температуре -16... -20 °С до 1 мес (допускается многократное чередование процедуры "замораживание-размораживание").

Рабочие растворы АДФ можно хранить при температуре +2... +8 °С не более 2 дней или не более 1 дня - при температуре +18... +25 °С, не замораживать.

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.

3. Сайт компании: www.tehnologia-standart.ru.