



**Інструкція**  
**з використання набору реагентів**  
**для визначення вовчакового антикоагулянту**  
**ЕКСПРЕС-ЛЮПУС-ТЕСТ**

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 50-100 визначень при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

**Принцип методу**

Визначення вовчакових антикоагулянтів (ВА) в оригінальному скринінговому варіанті засноване на порівняльній оцінці результатів в плазмі хворого активованого парціального тромбoplastинового часу (АПТЧ) з двома реагентами: високочутливим до ВА (АПТЧ<sub>ВА+</sub>) і низькочутливим до ВА (АПТЧ<sub>ВА-</sub>). Наявність в плазмі ВА веде до порівняно більшого подовження часу згортання в тесті з АПТЧ<sub>ВА+</sub>, ніж з АПТЧ<sub>ВА-</sub>-реагентом. Ця відмінність не виявляється при інших причинах подовження згортання, зокрема, при дефіциті факторів згортання, наявності їх інгібіторів, при лікуванні гепарином (до концентрації гепарину 0.25 U/ml (Од/мл) плазми) і непрямими антикоагулянтами. При всіх цих ситуаціях є подібна гіпокоагуляція в АПТЧ<sub>ВА+</sub> і АПТЧ<sub>ВА-</sub> тесті.

**Призначення**

Набір Експрес-Люпус-тест призначений для скринінгу антикоагулянтів вовчакового типу (ВА або люпус-антикоагулянту). У плазмі крові ВА зв'язуються з негативно зарядженим фосфоліпідами і білково-фосфоліпідними комплексами і гальмують активацію і взаємодію між собою плазмових факторів згортання крові. Найбільш чітко ці порушення виявляються в фосфоліпід-залежних коагуляційних тестах. Наявність в плазмі ВА супроводжується рецидивуючими тромбозами вен і артерій, порушеннями мозкового кровообігу (головні болі, непритомність, динамічні розлади мозкового кровообігу, парези, епісиндром, порушення зору і ін.), фетоплацентарною недостатністю, звичним невиношуванням вагітності (викидні, внутрішньоутробна загибель плода), тромбоцитопенією, рідше – кровоточивістю мікроциркулярного типу, поліалергією, іншими імунними порушеннями, схильністю до розвитку ДВЗ-синдрому.

**Склад набору**

1. АПТЧ-реагент з низькою чутливістю до ВА (АПТЧ<sub>ВА-</sub>-реагент)(ліофільно висушений) - 2 фл.
2. АПТЧ-реагент з високою чутливістю до ВА (АПТЧ<sub>ВА+</sub>-реагент), 5 ml (мл) - 1 фл.
3. Контрольна плазма, позитивна на ВА (ліофільно висушена) - 1 фл.
4. Кальцію хлорид (концентрований 20:1 розчин, 0.5 М) - 2 ml (мл) - 1 фл.
5. Інструкція з використання.
6. Паспорт.

Примітка: Для проведення досліджень необхідна також свіжо отримана цитратна бідна тромбоцитами плазма здорової людини або Плазма -контроль Клот Н, 4 параметри.

**Аналітичні характеристики**

Коефіцієнт варіації результатів визначення АПТЧ не перевищує 10%. Допустимий розкид результатів визначення АПТЧ в одній пробі плазми крові різними наборами однієї серії не перевищує 10%.

**Перелік необхідного устаткування**

- центрифуга лабораторна;
- коагулометр (при відсутності коагулометра - секундомір, термобаня на 37°C);
- піпетки місткістю 0.1 і 0.2-1.0 ml (мл);
- пробірки скляні;

**Підготовка зразків**

Кров для дослідження забирають з ліктьової вени в пластикову або силіконову пробірку, що містить 3.2% розчин натрію лимоннокислого трьох заміщеного (цитрату натрію), співвідношення об'ємів крові і цитрату натрію - 9:1. Кров центрифугують при 3000-4000 г/min (об/хв) (1200-1400 g) протягом

15 min (хв). В результаті отримують бідну тромбоцитами плазму, яку переносять в іншу пробірку, де зберігають до проведення дослідження. Центрифугування має проводитися безпосередньо після взяття крові, а відбір плазми на дослідження відразу ж після центрифугування. Не допускається аналіз плазми хворих, що містить гепарин, що має згустки, гемоліз і отриманої більше 2 h (год) тому, а також замороженої плазми крові.

#### **Підготовка реагентів**

##### **1. АПТЧ<sub>ВА+</sub>-реагент**

АПТЧ<sub>ВА+</sub>-реагент входить до складу набору розведеним і готовим до використання. Рекомендується відливати необхідну на день роботи кількість реагенту в окрему пробірку, основний же флакон необхідно постійно зберігати при температурі 2-8°C протягом всього терміну використання набору. Перед застосуванням струснути до отримання гомогенної суспензії.

##### **2. Розведення АПТЧ<sub>ВА-</sub>-реагента**

В один з флаконів з АПТЧ<sub>ВА-</sub>-реагентом внести 2.5 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі 18-25°C і легкому погойдуванні протягом 2 min (хв), після чого отриману суспензію додатково гомогенізувати піпетуванням, уникаючи утворення піни. В результаті отримують розчин АПТЧ<sub>ВА-</sub>-реагента, який до використання повинен бути витриманий при кімнатній температурі протягом 15 min (хв). Перед застосуванням струснути до отримання гомогенної суспензії.

##### **3. Приготування робочого розчину кальцію хлориду**

У день дослідження, відповідно з потребою, концентрований розчин кальцію хлориду з флакону розвести дистильованою водою в 20 разів (1 об'єм концентрованого розчину + 19 об'єм води). Отримують робочий (0.277%) розчин кальцію хлориду (далі по тексту – розчин кальцію хлориду).

##### **4. Розведення контрольної плазми, позитивної на ВА**

У флакон з контрольною плазмою, позитивною на ВА, внести 1.0 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі і легкому погойдуванні протягом 3 min (хв). Контрольна плазма розводиться в день початку використання реагентів набору "Експрес-Люпус-тест" і служить для перевірки правильності виконання аналізу.

#### **Проведення аналізу**

*Етап 1.* У кювету коагулометра або в пробірку (при мануальному визначенні) внести 0.1 ml (мл) плазми хворого.

2. Інкубувати при температурі 37°C протягом 1 min (хв).

3. Додати 0.1 ml (мл) АПТЧ<sub>ВА+</sub>-реагента, що має кімнатну температуру.

4. Інкубувати при температурі 37°C протягом 3 min (хв).

5. До суміші додати 0.1 ml (мл) робочого розчину кальцію хлориду (попередньо підігрітого до 37°C) і зафіксувати час згортання.

Аналогічно, із застосуванням АПТЧ<sub>ВА+</sub>-реагента, визначити час згортання в контрольній нормальній плазмі або РНП-плазмі.

*Етап 2.* У кювету коагулометра або в пробірку (при мануальному визначенні) внести 0.1 ml (мл) плазми хворого.

2. Інкубувати при температурі 37°C протягом 1 min (хв).

3. Додати 0.1 ml (мл) розведеного АПТЧ<sub>ВА-</sub>-реагента, що має кімнатну температуру.

4. Інкубувати при температурі 37°C протягом 3 min (хв).

5. До суміші додати 0.1 ml (мл) робочого розчину кальцію хлориду, що має температуру 37°C, і зафіксувати час згортання.

Аналогічно, з використанням АПТЧ<sub>ВА-</sub>-реагента, визначити час згортання в контрольній нормальній плазмі.

#### **Оцінка результатів**

Обчислюють показник NR за формулами:

$$R1 = \frac{t1}{t2}; \quad R2 = \frac{t3}{t4}; \quad NR = \frac{R1}{R2},$$

де: t1 - час згортання плазми хворого з реагентом АПТЧ<sub>ВА+</sub>;

t2 - час згортання контрольної нормальної плазми з реагентом АПТЧ<sub>ВА+</sub>;

t3 - час згортання плазми хворого з реагентом АПТЧ<sub>ВА-</sub>;

t4 - час згортання контрольної нормальної плазми з реагентом АПТЧ<sub>ВА-</sub>;

R1 - показник подовження часу згортання у хворого, в порівнянні з контролем, в тесті з АПТЧ<sub>ВА+</sub> -

реагентом;

R2 - показник подовження часу згортання у хворого, в порівнянні з контролем, в тесті з АПТЧ<sub>ВА-</sub> - реагентом;

NR - відношення, яке кількісно оцінює гіпокоагуляційний ефект ВА.

У здорових людей і хворих з різними видами патології гемостазу, але без наявності в плазмі крові ВА, показник NR в середньому дорівнює **0.99** ( $\sigma = 0.10$ ), з межами нормальних коливань ( $\pm 2\sigma$ ) від **0.79 до 1.19**. Діапазон значень NR від 1.2 до 1.3 є сумнівним результатом і вимагає повторного обстеження, а також зіставлення з іншими тестами для виявлення ВА. Якщо NR дорівнює або перевищує 1.3, висока ймовірність наявності вовчакового антикоагулянту.

#### **Зберігання та стабільність**

Набір розрахований на дослідження 50-100 зразків плазми крові при витраті АПТЧ-реагентів по 0.1 - 0.05 ml (мл) на аналіз. Зберігання набору повинно проводитися при температурі 2-8°C протягом усього терміну придатності набору 18 mth (міс). Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів. Заморожування не допускається.

Час використання набору не повинен перевищувати 2 wk (тижд) з моменту розкриття його компонентів. АПТЧ<sub>ВА+</sub> -реагент можна зберігати при кімнатній температурі 18-25°C не більше 7 d (доб) і протягом усього терміну використання набору при температурі 2-8°C. Заморожування не допускається. АПТЧ<sub>ВА-</sub> -реагент можна зберігати при кімнатній температурі не більше 6 h (год) і не більше 7 d (доб) при температурі 2-8°C. Заморожування не допускається. Робочий розчин кальцію хлориду можна зберігати при 37°C не більше 6 h (год), при кімнатній температурі не більше 1 d (доб) або не більше 2 d (доб) в герметично закритому флаконі при температурі 2-8°C. Контрольну плазму, позитивну на ВА, можна зберігати при кімнатній температурі не більше 2 h (год).

#### **Вимоги безпеки та утилізації**

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

#### **Транспортування**

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобової температурі 37°C не більше 72 h (год).

#### **Гарантії виробника**

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 18 mth (міс) з дня виготовлення набору.

#### **Література**

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. Момот А.П., Мамаев А.Н., Сердюк Г.В. Способ диагностики антифосфолипидного синдрома. Патент РФ №2186391 от 27 июля 2002 г.



ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14,  
тел/факс: (057) 752-32-31, електронна адреса: [granumlab@gmail.com](mailto:granumlab@gmail.com)

#### **Символи на продукції**



Виробник **Виготовлено:** Дата виробництва **Придатно до:** Термін придатності **Серія:** Номер



серії **IVD** Виріб медичний для діагностики in vitro



Консультуйтеся з інструкцією із використання




Берегти від сонячного світла



Знак відповідності Технічним регламентам



Температурне

обмеження  Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо

застережень, попереджень, запобіжних заходів

granum.ua