

ПРОТЕЇН С (хромогенний) Dia-PROTEIN C

Dia-PROTEIN C (chromogenic)

Каталог. №: 07108

Дата випуску інструкції: 19-11-2018
Версія: 3



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Кат. №: 07108 Білок С (хромогенний) Dia-PROTEIN C 4 x 2 мл

ПРИЗНАЧЕННЯ

Аналіз на білок С (хромогенний) Товариства з обмеженою відповідальністю «Diagon» призначений для кількісного визначення білка С у плазмі людини за допомогою методу хромогенного аналізу. Білок С - залежний білок від вітаміну К, який відіграє важливу роль у регулюванні антикоагулянтних механізмів. Він може пригнічувати коагуляцію шляхом інактивації факторів Va¹ та VIII², або при активації може стимулювати фібриноліз³. Білок С циркулює як зимоген і перетворюється на активну серинову протеазу під дією тромбіну в присутності тромбомодуліну. Дефіцит білка С, будучи як спадковим, так і набутим, проявив себе як фактор ризику розвитку венозного тромбозу. Білок С в плазмі активується шляхом специфічної фракції зі зміїної отрути *Agkistrodon contortrix*. Кількість активованого білка С (APC) визначається шляхом моніторингу швидкості гідролізу специфічного хромогенного субстрату білка С. Розщеплення rNA вимірюється при 405 нм і є пропорційним рівню білка С.



ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Реагенти, що містяться в даному наборі, призначені для діагностики *in vitro* лише під професійним керівництвом.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Реагенти, що містяться в цьому наборі, призначені лише для діагностики *in vitro* - **НЕ КОВТАТИ!** Одягайте рукавички при роботі з усіма компонентами набору.

ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ

Зверніться до даних щодо безпеки продукції для ризиків та правил безпеки та їх утилізації.

НАДАНІ МАТЕРІАЛИ

Компонент	Вміст	Опис	Підготовка
Субстрат білка С	4 x 2 мл	Кожен флакон містить 2,75 мкмоль Ліофілізованого руго-Glu-Pro-Arg-rNA.HCl.	Розбавте вміст кожного флакону з 2 мл Розріджувача Білка С. Якщо каламутний, нагрійте при температурі +37°C протягом кількох хвилин.
Активатор білка С	4 x 2 мл	Кожен флакон містить 0,8 одиниць активатора зі зміїної отрути (Protac®).	Розбавте кожен флакон з 2 мл деіонізованої води.
Розріджувач білка С	2 x 5 мл	Кожен флакон містить цей буфер з азидом натрію як консервант.	Готовий до використання.
У кожному наборі містяться інструкції щодо використання.			

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ

Каталог. №: 09605 Dia-Cal Spec



ЗБЕРІГАННЯ І СТАБІЛЬНІСТЬ

Невідкриті флакони стабільні до закінчення терміну придатності при зберіганні у відповідних умовах.

Субстрат білка С	Відновлений реагент стабільний упродовж 1 тижня при +2 - +8 °C або упродовж місяця при -20 °C.
Активатор білка С	Відновлений реагент стабільний упродовж 1 тижня при +2 - +8 °C або упродовж місяця при -20 °C.
Розріджувач білка С	Зберігати при +2 - +8 °C.

ЗАБІР ЗРАЗКА І ПІДГОТОВКА

Пластикове або силіконове скло слід використовувати увесь час. Забір крові (9 частин) слід робити в 3,2% або 3,8% антикоагулянті натрію цитрату (1 частина). Відокремте плазму після центрифугування при 1500 x g упродовж 15 хвилин. Плазму слід зберігати при температурі +2 - +8 °C або +18 - +24 °C. Тестування має бути завершено упродовж 4 годин після збору зразків або плазма може зберігатися заморожена при -20 °C упродовж 2 тижнів або -70 °C упродовж 6 місяців. Перед тестуванням швидко розморозуйте при температурі +37 °C. Не тримати при +37 °C більше 5 хвилин. Помилкові результати можуть бути викликані забрудненням тканинних рідин або стазом. Уникайте збудження, повітряних пухирів або піни. При наслідках загальної вживаних ліків звертайтеся до Young, et al⁶.



ПРОЦЕДУРА

Підготуйте стандарти плазми та зразки плазми пацієнтів таким чином:

A. Ручний метод

Важливо: Використовуйте тільки розчин Dia-Saline для розведення.

Стандарт	Плазма	Буфер
100%	100 мкл калібраційної плазми	+300мкл фізрозчину
50%	50 мкл калібраційної плазми	+350мкл фізрозчину
0%		тільки 400 мкл фізрозчину
Пацієнт	100 мкл плазми	+300мкл фізрозчину

Ручний метод на напівавтоматичному коагулометрі Coag 4D

- 1) Розведіть 1 частину плазми пацієнта або відновленого контролю з 3 частинами Фізрозчину та перемішайте їх.
- 2) Додайте в кювету 60 мкл розведеного калібратора, контролю або зразка пацієнта, та інкубуйте при температурі +37°C протягом 30 секунд. **Якщо версія програмного забезпечення до 2.06 для Coag4D та 2.02 для Coag2D вам доведеться контролювати зазначений час інкубації за допомогою секундоміра!**
- 3) Якщо версії програмного забезпечення 2.06 (для Coag4D) та 2.02 (для Coag2D), то така функція вже присутня у цих версіях програмного забезпечення.
- 4) Додайте 60 мкл Активатора Білка С та інкубуйте суміш при температурі +37°C протягом 5 хвилин.
- 5) Додайте 60 мкл реагенту Субстрату Білка С.
- 6) Виміряйте зміну абсорбції з точністю до 0,1 сек.
- 7) На графічному папері позначте на осі x активність Білка С, а на осі Y - зміну абсорбції.
- 8) Інтерполюйте значення пацієнта та контролю з прямої калібрувальної лінії.

B. Метод кінцевої точки аналізу

1. У скляну або пластикову пробірку:
 - a) Додайте 100 мкл стандарту або розведення плазми пацієнта.
 - b) Інкубуйте при температурі +37 °C упродовж 2 хвилин.
 - c) Додайте 200 мкл Активатора білка С і перемішайте.
 - d) Інкубуйте при температурі +37 °C упродовж 5 хвилин.
 - e) Додайте 200 мкл субстрату білка С і перемішайте.
 - f) Інкубуйте при температурі +37 °C упродовж 10 хвилин.
 - g) Додайте 200 мкл оцтової кислоти і перемішайте.
 - h) *Додайте 200 мкл води (необов'язково).

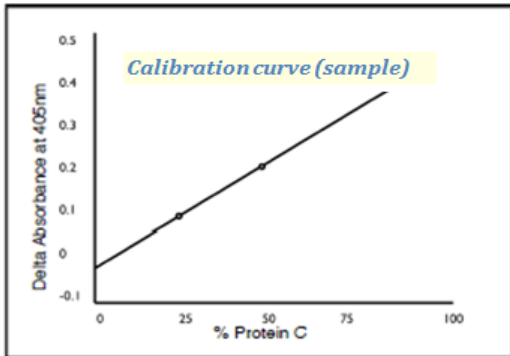
* Деякі спектрофотометри вимагають мінімум 1 мл об'єму в кюветі.

2. Зчитайте абсорбцію при 405 нм у 1-міліметровій мікрокуветі у бланку з деіонізованою водою. Щонайменше десять визначень може бути виконано одночасно з тими самими зупинками, що спостерігається нестійкого піпетування інтервалом у кожні п'ять секунд.

КАЛІБРУВАЛЬНА КРИВА

Побудуйте поглинання, отримане для кожного стандарту білка С за % білка С на лінійному графічному папері. Концентрація білка С у зразках плазми хворого може бути визначена інтерполяцією з калібрувальної кривої.

Якщо використовується комерційний стандарт білка С, концентрація білка С у зразку хворого повинна бути скоректована до концентрації білка С у стандарті. Калібрувальна крива, наведена нижче, є лише прикладом. Калібрувальна крива повинна отримуватись кожного разу, коли проводиться аналіз.



Вісь X: % білка С

Вісь Y: зміна абсорбції при 405 нм

В. Автоматизований кінетичний метод

Зв'яжіться з Diagon Ltd. для спеціальних посібників щодо застосування інструментів. Приклад таблиці:

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Дефіцит білка С, вроджений або набутий, може призвести до серйозних тромбоутворюючих явищ, таких як: тромбофлебіт, тромбоз глибоких вен, або легенева емболія. Приблизно у 2-8% усіх пацієнтів з венозним тромбозом у віці 40-45 років є дефіцит білка С.

Пацієнти з спадковими дефіцитами, як правило, мають венозний тромбоз у молодому віці. Перше проявлення, як правило, спонтанне та пов'язане з травмою або стресом для механізму гемостазу. Поширеність дефіциту білка С - один випадок на 300 осіб або приблизно 0,33%.

НАБУТИЙ ДЕФІЦИТ

Зменшення рівня білка С спостерігається у наступних випадках:

1. Розлади печінки: гепатит, цироз печінки.
2. ДВЗ-синдром.
3. Пероральна антикоагулянтна терапія, випадки якої при інтерпретації результатів тесту важкі, якщо пацієнти мають анамнез тромбозів та приймають оральний антикоагулянт.

ОБМЕЖЕННЯ

Жовтяні, гемолізовані або гіперліпемічні зразки впливають на показники абсорбції, тому вимагається використання бланків плазми для точних результатів. Місця для плазми також необхідні для пацієнтів при підозрі контакту з факторами активації, такі як: пацієнти з ДВЗ-синдромом або особи, які приймають оральні контрацептиви, при чому може відбутися холодна активація. Бланки плазми отримуються, замінюючи фізіологічний розчин на активатор білка С у реакції тесту. Відніміть бланк активності від активності у тесті зразка. Природним активатором білка С є тромбін у присутності тромбомодуліну. Не потрібно виключати можливе існування аномалій клінічного білка С, що не виявляються за рахунок реактивності з активатором зміїної отрути або з хромогенним субстратом, що використовується в цьому наборі. Щоб забезпечити точні, відтворювані результати, використовуйте точні піпетки та дотримуйтесь рекомендованих процедур з особливою увагою щодо часу та температури інкубації.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна встановити програму контролю якості. Нормальний та патологічний контроль плазми потрібно перевіряти перед кожною партією зразків пацієнтів, щоб забезпечити задовільний показник

роботи та роботи оператора. Якщо засоби контролю не виконуються згідно з очікуваннями, результати пацієнта слід вважати недійсними. Товариство з обмеженою діяльністю Diagon постачає наступні елементи контролю, доступні для використання з такою продукцією:

Каталог. №: 09305 Dia-Cont Spec N

Каталог. №: 09405 Dia-Cont Spec P

РЕФЕРЕНСНІ ЗНАЧЕННЯ

Референсні значення можуть відрізнятися між лабораторіями залежно від техніки та систем, що використовуються. З цієї причини кожна лабораторія повинна встановити власний діапазон норми. Значення активності білка С, як правило, виражаються в відносних відсотках у порівнянні із звичайним стандартним рівнем плазми.

Bertina *et al*⁶ повідомили про діапазон 65-145% у здорових осіб із зменшеним рівнем, виявленим після антикоагулянтної терапії. Очевидно, немає різниці у білку С між здоровими чоловіками та жінками. Наступні нормальні значення були визначені Товариством з обмеженою діяльністю Diagon за допомогою фотооптичного коагуляційного інструменту, використовуючи 17 плазм здорових чоловіків і жінок.

Активність білка С %	СВ	Діапазон
105 %	26,6	61,2 - 162,9%

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Товариство з обмеженою діяльністю Diagon або їх представники встановили наступні вказівні характеристики процедури роботи. Кожна лабораторія повинна встановити власні дані процедури роботи.









ТОЧНІСТЬ

У дослідженнях, де відновлення плазми білка С було визначено шляхом додавання різних рівнів білка С до плазми дефіциту білка С, було досягнуто очікуваного відновлення.

К-сть	Відтворюваність		Точність між аналізами		
	Точність в аналізі		Точність між аналізами		
К-сть	Білок С	КВ (%)	К-сть	Білок С	КВ (%)
10	68,5	2,5	18	45,3	2,6

ПОСИЛАННЯ

1. Walker FJ (1981) Regulation of activated protein C by protein S. The role of phospholipid in factor V inactivation, J BiolChem, 256: 11128-31
2. Taylor FB, Lockhart MS (1985) A new function for activated protein C: activated protein C prevents inhibition of plasminogen activators by releasate from mononuclear leukocytes—platelet suspensions stimulated by phorbol diester, Thromb Res, 37(1): 155-64
3. Fulcher CA, Gardiner JE, Griffin JH, Zimmerman TS (1984) Proteolytic activation of human factor VIII procoagulant protein by activated human protein C and its analogy with factor V, 63(2): 486-9
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
5. Young DS et al. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd ed., AAC Press, Washington, D.C., 1990
6. Bertina RM, Broekmans AW, Krommenhoek- Van Es C, Van Wijngaarden A (1984) The Use of a Functional and Immunologic Assay for Plasma Protein C in the Study of the Heterogeneity of Congenital Protein C Deficiency, ThrombHaemostas, 51: 1-5
7. Pabinger-Fasching I, Bertina RM, Lechner K, Niesser H, Korninger C (1983) Protein C Deficiency in Two Austrian Families, ThromHaemostas, 50: 810-3

Символи			
	Прилади для діагностики <i>in vitro</i>		Перед використанням, ознайомтеся з інструкцією
	Біозахист		Діапазон температури
	Виробник		Термін придатності
	Номер партії		Знак відповідності CE
	Номер у каталозі		



ВИРОБНИК

ДІАГОН ЛТД.
 вул. Барош, 48-52,
 Н-1097 Будапешт, Угорщина
 Тел.: +36 1 3696500
 Факс: +36 1 3696301
 Web: www.digon.com
 e-mail: diagon@diagon.com



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»
 вул. Симона Петлюри, 25
 м. Івано-Франківськ, 76014
 тел.: +38 (0342) 775 122
 факс: +38 (0342) 775 123
 e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

