



ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов для определения протеина С

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «ХромоТех-Протеин С» предназначен для определения активности протеина С в плазме крови на автоматических коагулометрах или фотометре.

Протеин С - один из наиболее важных физиологических антикоагулянтов, синтезирующийся в печени при участии витамина К. В активной форме он разрушает коагуляционные факторы свёртывания VIIa и Va. Наследственный дефицит протеина С приводит к тромбозам и тромбозмболиям. У новорожденных с дефицитом протеина С возможно развитие фульминантной пурпуры.

Набор предназначен только для профессионального использования.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип метода. Под влиянием специфического активатора протеин С приобретает способность разрушать хромогенный субстрат. Для вычисления активности протеина С определяют динамику изменения оптической плотности исследуемых образцов при 405 нм.

Состав набора:

1. Активатор протеина С (лиофильно высушенный), на 5 мл - 3 фл.
2. Хромогенный субстрат (лиофильно высушенный), на 3 мл - 1 фл.
3. Растворитель для активатора протеина С, 5 мл - 3 фл.
4. Плазма-калибратор (лиофильно высушенная), на 1 мл - 1 фл.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность определения протеина С – в диапазоне от 5 до 140 %, отклонение от «линейности» – не более 10 %.

Тест на «открытие» – не более 10 % отклонения.

Чувствительность определения – не более 5 %.

Коэффициент вариации полученных результатов не превышает 10 %.

Допустимый разброс результатов определения протеина С в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10 %.

Нормативные и фактические значения аналитических показателей указаны в паспорте к набору.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 4н от 06.06.2012 г.).

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

Все компоненты набора в используемых концентрациях не токсичны и проверены на содержание вирусов гепатитов и ВИЧ.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки, так как образцы 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 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Каталожный номер набора: **761**

ООО фирма "Технология-Стандарт"

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

**ОБОРУДОВАНИЕ,
МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ**

- Автоматический коагулометр или фотометр;
- секундомер;
- водяная баня или термостат на +37 °С;
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы пипеточные на 0,05 мл, 1-10 мл;
- пробирки пластиковые или стеклянные;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

**ПРИГОТОВЛЕНИЕ
АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ**

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2-3,8 % раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрат натрия). Соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1. Возможно использование вакуумных систем для забора крови, содержащих цитрат натрия (3,2-3,8 %). Кровь центрифугируют при 1200-1600 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 крови, имеющей сгустки, признаки гемолиза и полученной более 2 ч назад. Допускается замораживание образцов при -16... -70 °С на срок до 1 мес.

**ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ
И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

1.1. Разведение активатора протеина С

В один из флаконов с активатором протеина С внести **5,0 мл** растворителя и растворить содержимое при комнатной температуре (+18... +25 °С) в течение 5 мин.

1.2. Разведение хромогенного субстрата

Во флакон с хромогенным субстратом добавить **3,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре в течение 5 мин.

1.3. Разведение плазмы-калибратора

Во флакон с плазмой-калибратором внести **1,0 мл** дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре в течение 10 мин.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

На автоматическом коагулометре:

Коагулометр в автоматическом режиме смешивает исследуемую плазму с растворами активатора протеина С и хромогенного субстрата, после чего регистрирует изменение оптической плотности и рассчитывает активность протеина С.

Описание и настройки представлены в инструкции производителя автоматического коагулометра.

На фотометре:

1. Установить длину волны - 405 нм, выбрать кювету с длиной оптического пути - 1 см, установить «0» по дистиллированной воде.

2. К 0,05 мл плазмы-калибратора или исследуемой плазмы, взятой в пробирку, добавить 0,5 мл раствора активатора протеина С. Смесь встряхнуть и инкубировать при температуре +37 °С в течение 5 мин.

3. После инкубации к смеси добавить 0,1 мл хромогенного субстрата*, перемешать в течение 5-10 с и определить динамику изменения оптической плотности в течение 120 с. Учитывать результат изменения оптической плотности за минуту (А/мин).

Примечание:

* В зависимости от используемой кюветы объемы плазмы и реагентов могут быть уменьшены, но при этом необходимо сохранить соотношение объемов, указанных в данной инструкции.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определить коэффициент пересчета, используя формулу:

$$K = \frac{PC \% (плазмы-калибратора)}{\Delta A / мин (плазмы-калибратора)},$$

где:

K - коэффициент пересчета;

PC % (плазмы-калибратора) - активность протеина С в плазме-калибраторе в процентах (см. паспорт к набору);

Δ A / мин (плазмы-калибратора) - результат изменения оптической плотности плазмы-калибратора за минуту (А/мин).

Активность протеина С в исследуемой плазме определить по формуле:

$$PC \% (иссл. плазмы) = K \times \Delta A / мин (иссл. плазмы),$$

где:

PC % (иссл. плазмы) - активность протеина С в исследуемом образце в процентах (см. паспорт к набору);

K - коэффициент пересчета;

Δ A / мин (иссл. плазмы) - результат изменения оптической плотности исследуемой плазмы за минуту (А/мин).

У здоровых людей активность протеина С в плазме составляет **70 - 140 %** от нормы.

**4. ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ
КАЧЕСТВА**

При осуществлении внутрилабораторного контроля качества рекомендуется использовать реагент с нормальным диапазоном значений «Тех-контроль Н» (кат. № 776), а также реагент с патологическим диапазоном значений «Тех-контроль П» (кат. № 777).

**УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ
И ПРИМЕНЕНИЯ**

Набор рассчитан на проведение **30-100 определений** в зависимости от методики определения.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2... +8 °С в течение всего срока годности набора (**18 мес**) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается транспортировка при температуре до +25 °С в течение 30 сут транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Замораживание не допускается.

Растворы активатора протеина С и хромогенного субстрата хранить при комнатной температуре (+18... +25 °С) не более суток, при температуре +2... +8 °С - не более 7 дней в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается однократное замораживание при -16... -70 °С и хранение в течение месяца в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Плазму-калибратор можно хранить при комнатной температуре не более 3 ч, при температуре +2... +8 °С - не более 8 ч или не более месяца в замороженном состоянии при температуре -16... -70 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим.

Не следует смешивать рабочие реагенты разных серий.

Медицинское изделие, пришедшее в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации как медицинские отходы класса А (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа и приготовления реагентов могут привести к получению неверных результатов исследования.

По вопросам, касающимся качества набора «ХромоТех-Протеин С», следует обращаться в ООО фирму «Технология-Стандарт» по адресу: 656037, г. Барнаул, а/я 1351; тел.: (3852) 22-99-37, 22-99-38, 22-99-39. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru. <http://www.tehnologia-standart.ru>.

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 клинко-лабораторной диагностики. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.

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