



Інструкція
з використання набору реагентів
для визначення порушень в системі протеїну С
ПАРУС-тест

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 40-80 визначень при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Принцип методу

Протеїн С – вітамін К-залежний глікопротеїн, який синтезується в печінці і циркулює в крові у вигляді проферменту. Під дією активатора з отрути щитомордника протеїн С активується і діє як антикоагулянт через протеоліз факторів Va і VIIa в присутності свого кофактора протеїну S і фосфоліпідів. Тому, після додавання активатора протеїну С до нормальної плазми відбувається подовження часу згортання. При недостатній кількості протеїну С, протеїну S або при резистентності фактора Va до дії протеїну С, подовження часу згортання виражено в меншій мірі.

Призначення

Набір Парус-тест призначений для скринінгу порушень в системі протеїну С. Тест визначає поєднаний або ізольований дефіцит протеїнів С і S, а також резистентність фактора V до активованого протеїну С.

Склад набору

1. Активатор протеїну С (ліофільно висушений) - 2 фл.
2. АПТЧ-реагент (суміш фосфоліпідів і елагової кислоти, ліофільно висушена), на 2 ml (мл) - 4 фл.
3. Кальцію хлорид (концентрований 20:1 розчин, 0.5 М), 2 ml (мл) - 1 фл.
4. Контрольна плазма (ліофільно висушена), на 1 ml (мл) - 2 фл.
5. Інструкція з використання.
6. Паспорт.

Аналітичні характеристики

Коефіцієнт варіації результатів визначення не перевищує 10%. Тест не чутливий до присутності в плазмі крові гепарину до 0.3 од./ml (мл).

Перелік необхідного устаткування

- центрифуга лабораторна;
- коагулометр (при відсутності коагулометра - секундомір, термобаня на 37°C);
- піпетки місткістю 0.05, 0.1 і 1 ml (мл);
- скляні або пластикові (полістиролові) флакони;
- пробірки скляні.

Підготовка зразків

Кров для дослідження забирають з ліктьової вени в пластикову або силіконовану пробірку, що містить 3.2% розчин натрію лимоннокислого трьох заміщеного (цитрату натрію), співвідношення обсягів крові і цитрату натрію - 9:1. Кров центрифугують при 3000-4000 г/min (об/хв) (1200 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, що має згустки, гемоліз, надлишок цитрату натрію і отриманої більше 2 h (год) тому. Можливе дослідження попередньо заморожених зразків плазми (зберігання при - 20°C не більше 1 mth (міс)).

Підготовка реагентів

1. Розведення активатора протеїну С. В один з флаконів з активатором внести 1.5 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі 18-25°C і легкому погойдуванні протягом 1 min (хв). В результаті отримують розчин активатора протеїну С.
2. Розведення АПТЧ-реагенту. В один флакон з ліофільно висушеним АПТЧ-реагентом внести 2 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі і погойдуванні протягом 2 min (хв), після чого для гомогенізації пропіпетуйте отриману суспензію 10-12 разів без утворення піни. Перед

використанням розведений АПТЧ-реагент повинен бути витриманий при кімнатній температурі протягом 15 min (хв). Безпосередньо перед застосуванням розведений АПТЧ-реагент струсити.

3. Приготування робочого розчину кальцію хлориду. У день дослідження, відповідно з потребою, концентрований розчин кальцію хлориду розвести дистильованою водою в 20 разів (1 обсяг концентрованого розчину + 19 обсягів води). Витрата робочого розчину реагенту на 1 хворого - не більше 0.5 ml (мл).

4. Розведення контрольної плазми. В один флакон з контрольною плазмою внести 1 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі і легкому погойдуванні протягом 3 min (хв). Розведену контрольну плазму розлити по 0.22-0.25 ml (мл) в пластикові або скляні флакони, які потім закривають і заморожують при -20°C.

Другий флакон з контрольною плазмою використовувати аналогічно першому по необхідності. В день проведення дослідження використовувати свіжо розведену контрольну плазму або контрольну плазму, розморожену при кімнатній температурі.

Проведення аналізу

Дослідження контрольної плазми

Для автоматичних коагулометрів:

- 1.1. У налаштуваннях автоматичного коагулометра вказати наступну послідовність дій і обсяги: до 0.05 ml (мл) АПТЧ-реагенту додати 0.025 ml (мл) дистильованої води.
- 1.2. У суміш додати 0.05 ml (мл) контрольної плазми.
- 1.3. Провести інкубацію суміші при 37°C протягом 5 min (хв).
- 1.4. Після інкубації в кювету додати 0.05 ml (мл) робочого розчину кальцію хлориду і зареєструвати час згортання. Результат позначити як С(1).
- 2.1. У налаштуваннях автоматичного коагулометра вказати наступну послідовність дій і обсяги: до 0.05 ml (мл) АПТЧ-реагенту додати 0.025 ml (мл) активатора протеїну С.
- 2.2. У суміш додати 0.05 ml (мл) контрольної плазми.
- 2.3. Провести інкубацію суміші при 37°C протягом 5 min (хв).
- 2.4. Після інкубації в кювету додати 0.05 ml (мл) робочого розчину кальцію хлориду, що має температуру 37°C, і зареєструвати час згортання. результат позначити як С(2).

Для напівавтоматичних коагулометрів:

- 1.1. До 0.1 ml (мл) АПТЧ-реагенту, взятого в кювету коагулометра, додати 0.05 ml (мл) дистильованої води.
- 1.2. Потім до суміші додати 0.1 ml (мл) контрольної плазми.
- 1.3. Провести інкубацію вмісту кювети в термостаті коагулометра при 37°C.
- 1.4. Через 5 min (хв) інкубації в кювету додати 0.1 ml (мл) робочого розчину кальцію хлориду, що має температуру 37°C, і зареєструвати час згортання. Результат позначити як С(1).
- 2.1. До 0.1 ml (мл) АПТЧ-реагенту, взятого в іншу кювету коагулометра, додати 0.05 ml (мл) активатора протеїну С.
- 2.2. Потім до суміші додати 0.1 ml (мл) контрольної плазми.
- 2.3. Провести інкубацію вмісту кювети в термостаті коагулометра при 37°C.
- 2.4. Через 5 min (хв) інкубації в кювету додати 0.1 ml (мл) робочого розчину кальцію хлориду, має температуру 37°C, і зареєструвати час згортання. Результат позначити як С(2).

Мануальний варіант:

- 1.1. До 0.1 ml (мл) АПТЧ-реагенту, взятого в пробірку, додати 0.05 ml (мл) дистильованої води.
- 1.2. Потім до суміші додати 0.1 ml (мл) контрольної плазми.
- 1.3. Пробірку струсити і помістити на водяну баню при температурі 37°C.
- 1.4. Через 5 min (хв) інкубації в пробірку додати 0.1 ml (мл) робочого розчину кальцію хлориду, що має температуру 37°C, і включити секундомір.
- 1.5. Дістати пробірку з бані і зафіксувати час згортання при періодичному погойдуванні пробірки. Результат позначити як С(1).
- 2.1. До 0.1 ml (мл) АПТЧ-реагенту, взятого в іншу пробірку, додати 0.05 ml (мл) активатора протеїну С.
- 2.2. Потім до суміші додати 0.1 ml (мл) контрольної плазми.
- 2.3. Пробірку струсити і помістити на водяну баню при температурі 37°C.
- 2.4. Через 5 min (хв) інкубації в пробірку додати 0.1 ml (мл) робочого розчину кальцію хлориду, що має температуру 37°C, і включити секундомір.
- 2.5. Дістати пробірку з бані і відзначити час згортання при періодичному погойдуванні пробірки. Результат позначити як С(2).

Примітка: рекомендується проводити дослідження на коагулометрі, що, в порівнянні з мануальним варіантом, зменшує розкид результатів.

Дослідження плазми хворого

Виконується аналогічно дослідженню контрольної плазми (див. п. 2.1 - з використанням коагулометрів по коагулометричному або мануального варіанту), включає в себе визначення часу згортання в суміші плазми хворого з дистильованою водою - Б(1) і в суміші плазми хворого з активатором протеїну С - Б(2).

Оцінка результатів

За отриманими даними розраховують нормалізоване відношення (НВ):

$$НВ = \frac{С(1) \times Б(2)}{Б(1) \times С(2)} k$$

де: С(1) і С(2) - час згортання в контрольній плазмі з додаванням відповідно дистильованої води і активатора протеїну С;

Б(1) і Б(2) - час згортання в плазмі хворого з додаванням відповідно дистильованої води і активатора протеїну С;

k - нормуючий коефіцієнт (див. Паспорт до набору реагентів Парус-тест).

У контрольній плазмі (входить до складу набору Парус-тест) час С(1) становить 25-45 с (с) (в залежності від техніки визначення), а С(2) перевищує 70 с (с).

(НВ) в нормі перевищує 0.7. Всі значення нижче 0.7 свідчать про порушення в системі протеїну С (недостатній кількості або аномалії протеїну С, протеїну S або резистентності фактора Va до дії протеїну С).

Зберігання та стабільність

Набір розрахований на дослідження 80 зразків плазми при використанні автоматичних і напівавтоматичних коагулометрів. При використанні мануальної техніки визначень і ряду напівавтоматичних коагулометрів число визначень знижується до 40.

Зберігання набору повинно проводитися при температурі 2-8°C протягом усього терміну придатності набору 24 mth (міс). Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Час використання набору не повинно перевищувати 2 wk (тижд) з моменту розкриття його компонентів. Розчин активатора протеїну С можна зберігати при кімнатній температурі 18-25°C не більше 6 h (год) або при температурі 2-8°C не більше 5 d (доб). Не заморожувати. Розведений АПТЧ-реагент можна зберігати при кімнатній температурі не більше 6 h (год) і не більше 1 wk (тижд) при температурі 2-8°C. Концентрований розчин кальцію хлориду після відкриття флакона можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 2 mth (міс).

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) при температурі 2-8°C. Не допускається зливання залишків цього розчину після дня роботи з розчинами, що зберігаються при температурі 2-8°C. Розведену контрольну плазму можна зберігати при кімнатній температурі не більше 2 h (год) або не більше 1 mth (міс) при температурі -20°C.

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 24 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.

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

Символи на продукції

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