



Інструкція
з використання набору реагентів
для визначення резистентності фактора Va до активованого протеїну С
ФАКТОР V-PC-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 профермента. Під дією активатора з отрути щитомордника протеїн С активується і діє як антикоагулянт через протеоліз факторів Va і VIIIa. При резистентності фактора Va до протеїну С антикоагулянтна дія протеїну С знижена, що може бути причиною тромбофілії. В даному методі, в результаті додавання активатора протеїну С до суміші нормальної і дефіцитної по фактору V плазми, відбувається подовження часу згортання. При резистентності фактора Va до дії протеїну С (в суміші плазми хворого і дефіцитної по фактору V плазми) подовження часу згортання виражено в меншій мірі.

Призначення

Набір Фактор V-PC-тест призначений для визначення резистентності фактора Va 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. Дефіцитна по фактору V плазма, (ліофільно висушена), на 1 ml (мл) - 4 фл.
4. Кальцію хлорид (концентрований 20:1 розчин, 0.5 M), на 2 ml (мл) - 1 фл.
5. Інструкція з використання.
6. Паспорт.

Аналітичні характеристики

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

Перелік необхідного устаткування

- коагулометр с механічним принципом реєстрації результатів;
- центрифуга лабораторна;
- піпетки місткістю 0.05, 0.1, 1.0 і 5.0 ml (мл);
- скляні або пластикові (полістиролові) пробірки, що герметично закриваються;
- секундомір;
- 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 об'ємів крові і цитрату натрію - 9:1. Кров центрифугують при 3000-4000 г/min (об/хв) (1200g) 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 **1.8 ml (мл)** дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі 18-25°C і легкому погойдуванні протягом 1 min (хв). В результаті отримують розчин

активатору протеїну С.

2. Розведення АПТЧ-реагенту.

В один флакон з ліофільно висушеним АПТЧ-реагентом внести 2.0 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі і погойдуванні протягом 2 min (хв), після чого для гомогенізації пропіпетувати 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 об'єм концентрованого розчину + 19 об'ємів води). Витрата робочого розчину реагенту на 1 хворого - не більше 0.5 ml (мл).

4. Розведення дефіцитної по фактору V плазми.

У флакон з дефіцитною по фактору V плазмою внести 1.0 ml (мл) дистильованої води і розчинити вміст при кімнатній температурі 18-25°C і легкому погойдуванні протягом 3 min (хв). Розведену плазму розлити по 0.4-0.5 ml (мл) в пластикові або скляні флакони чи пробірки, які потім закривають і заморожують при -20°C. Інші флакони з дефіцитної по фактору V плазмою використовувати аналогічно першому по необхідності. Розведену плазму можна зберігати при кімнатній температурі не більше 2 h (год) або не більше 1 mth (міс) при температурі -20°C. В день проведення дослідження використовувати свіжо розведену дефіцитну плазму або дефіцитну по фактору V плазму, розморожену при кімнатній температурі.

5. Підготовка контрольної плазми.

Для цієї мети необхідно змішати (приблизно в рівних частках) 3-4 зразка свіжо приготовленої (див. розділ «Приготування зразків плазми») бідної тромбоцитами плазми здорових людей.

Проведення аналізу

1. Розведення зразків плазми.

Перед аналізом контрольну плазму і досліджувані зразки плазми розвести фізіологічним (0,9%) розчином хлориду натрію (1 + 3), для чого в кожному випадку змішати 0.1 ml (мл) плазми з 0.3 ml (мл) фізіологічного розчину.

2. Дослідження контрольної плазми

А) 1. До 0.05 ml (мл) дефіцитної по фактору V плазми, взятої в кювету коагулометра, додати 0.05 ml (мл) дистильованої води.

2. Провести інкубацію вмісту кювети в термостаті коагулометра при 37°C.

3. Через 4 min (хв) інкубації в кювету послідовно додати 0.1 ml (мл) розведеної (див. п. 2.1.) контрольної плазми і 0.1 ml (мл) АПТЧ-реагенту.

4. Провести інкубацію вмісту кювети в термостаті коагулометра при 37°C.

5. Через 3 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).

Б) 1. До 0.05 ml (мл) дефіцитної по фактору V плазми, взятої в кювету коагулометра, додати 0.05 ml (мл) активатора протеїну С.

2. Провести інкубацію вмісту кювети в термостаті коагулометра при 37°C.

3. Через 4 min (хв) інкубації в кювету послідовно додати 0.1 ml (мл) розведеної (див. п. 2.1.) контрольної плазми і 0.1 ml (мл) АПТЧ-реагенту.

4. Провести інкубацію вмісту кювети в термостаті коагулометра при 37°C.

5. Через 3 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 (2).

Примітка: рекомендується проводити дослідження на механічному коагулометрі (КС Амелунг; мінілабі 701, Юнимед; Thrombostat, Behnk Elektronik і ін.), що, в порівнянні з мануальним визначенням, значно зменшує розкид результатів.

3. Дослідження плазми хворого

Виконується аналогічно дослідженню контрольної плазми, 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 (ПВ):

$$НВ = \frac{C(1) \times B(2)}{B(1) \times C(2)} k$$

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

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

У контрольній плазмі час С (1) становить приблизно 45-80 s (с) (в залежності від типу коагулометра), а С (2) - перевищує 95 s (с).

НВ в нормі перевищує 0.8. Всі значення нижче 0.8 свідчать про резистентність фактора Va до дії протейну С.

Зберігання та стабільність

Набір розрахований на дослідження 40-80 зразків плазми при витраті активатора протейну С по 0.05-0.025 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.

Час використання набору не повинно перевищувати 2 wk (тижд) з моменту розкриття його компонентів. Розчин активатора протейну С можна зберігати при температурі 18-25°C не більше 6 h (год) або при 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 2-8°C. Концентрований розчин кальцію хлориду після відкриття флакона можна зберігати при 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 в герметично закритому флаконі – не більше 2 d (доб) при 2-8°C. Не допускається зливання залишків цього розчину після дня роботи з розчинами, що зберігаються при 2-8°C. Розведену дефіцитну за фактором Vплазму можна зберігати при кімнатній температурі не більше 2 h (год) або не більше 1 mth (міс) при -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).

Гарантія 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 нарушенных 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