



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для скрининговой оценки нарушений в системе протеина С ([Протеин С-скрининг тест](#)) по ТУ 9398-276-05595541-2009».

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для скрининговой оценки нарушений в системе протеина С (Протеин С-скрининг тест) по ТУ 9398-276-05595541-2009» (сокращенное наименование – «Протеин С-скрининг тест») предназначено для скрининговой оценки нарушений в системе протеина С в плазме крови человека клоттинговым методом.

Предназначенный пользователь. Определение нарушений в системе протеина С с помощью набора Протеин С-скрининг тест может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Диагностическая роль. Нарушения в системе протеина С вызывают тромбозы различной локализации. Гомозиготная недостаточность протеина С приводит к развитию фульминантной пурпуры у детей (практически несовместимой с жизнью). Гетерозиготный дефицит протеина С или протеина S проявляется ранними тромбозами: инфарктом миокарда, тромбозом легочной артерии, тромбозы глубоких и поверхностных вен нижних конечностей, рецидивирующие тромбозы различной локализации и др. Кроме того, лечение тромбозов непрямыми антикоагулянтами (варфарином, пелентаном и др.) на фоне гетерозиготного дефицита протеина С может приводить к нарастанию клиники тромбозов или сопровождаться развитием острых некрозов кожных покровов различной локализации, так называемых «кумариновых некрозов». Приобретенный дефицит протеина С наблюдается при печеночной недостаточности, острых ДВС-синдромах, септических состояниях и утяжеляет течение основного заболевания и, в свою очередь, требует медикаментозной и трансфузионной коррекции.

Область применения. Область применения набора – клиническая медицина, клиническая лабораторная диагностика.

НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ ТЕСТА

Противосвертывающая система протеина С (протеин С, протеин S, тромбомодулин, тромбин, ингибитор протеина С) осуществляет важную функцию регуляции свертывающей активности плазмы крови. Действие системы направлено преимущественно на ингибирование факторов VIIIa и Va и на инактивацию ингибитора активатора плазминогена (PAI-1).

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора:

АЧТВ-реагент, лиофильно высушенный, объем после восстановления – 2,0 мл/флакон – 2 флакона;

АЧТВ-реагент с активатором, лиофильно высушенный, объем после восстановления – 2,0 мл/флакон – 2 флакона;

Плазма-калибратор, лиофильно высушенная, объем после восстановления – 1,0 мл/флакон – 1 флакон;

Кальций хлористый 0,025 М раствор – 5,0 мл/флакон – 1 флакон.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 80 определений на всех типах коагулометров.

Принцип метода.

Инкабуляция нормальной плазмы с активатором протеина С, выделенным из яда медноголового щитомордника *Agkistrodon contortrix contortrix* вызывает активацию эндогенного протеина С и протеина S, что удлиняет время свертывания нормальной плазмы в тесте активированного частичного тромбoplastинового времени (АЧТВ). Без добавления активатора АЧТВ этой же плазмы не изменено.

В плазме больных с дефицитом системы протеина С или при наличии мутантного фактора V (Лейден) удлинение АЧТВ при добавлении активатора менее выражено, чем в норме.

МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КАЛИБРАТОРУ

Плазма-калибратор, входящая в набор Протеин С-скрининг тест аттестована по Нормализованному Отношению против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против пула донорской плазмы, взятого от 100 здоровых доноров.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая специфичность

Использование специфического активатора позволяет в процессе анализа активировать только протеины С и S, тем самым делая анализ специфичным только к нарушениям в этой противосвертывающей системе.

Результаты определения могут зависеть от назначаемых препаратов. Эстрогены у мужчин и оральные контрацептивы у женщин снижают значения АЧТВ. Препараты дифенина, гепарина, варфарина, гирудина и других прямых ингибиторов тромбина могут повышать АЧТВ.

На результаты определения АЧТВ влияет выбор антикоагулянта и соблюдение точного соотношения антикоагулянт:кровь.

Следующие вещества не влияют на правильность выявления нарушений в системе протеина С: билирубин в концентрации до 0,2 г/л; гемоглобин (свободный) – до 1 г/л; триглицериды – до 1,2 г/л.

Точность

Нормализованное отношение (НОк) в плазме-калибраторе, в пределах 0,7 – 1,3.

Допустимое отклонение НОк в плазме-калибраторе от аттестованного значения не превышает 5%.

Продолжительность АЧТВ в плазме-калибраторе без активатора в пределах 25 – 35 сек. Продолжительность АЧТВ в плазме-калибраторе с активатором в пределах 75 – 130 сек.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения НОк в плазме-калибраторе не превышает 10%. Допустимый разброс результатов при определении НОк в одной пробе плазмы-калибратора разными наборами одной серии не превышает 10%.

Значения, соответствующие нормальным

Нормальный диапазон значений Нормализованного Отношения, полученный при определении у не менее 100 здоровых доноров, составляет 0,7 – 1,3.

Ограничения метода

Клиническая диагностика не должна основываться только на результатах Протеин С-скрининг теста. При постановке диагноза должны быть рассмотрены клинические симптомы и другая значимая тестовая информация.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов Протеин С-скрининг тест предназначен только для диагностики *in vitro*. Класс потенциального риска применения набора – 2а.

Набор реагентов Протеин С-скрининг тест не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду и не представляет рисков, связанных с возможностью взрыва и возгорания.

При работе с набором и образцами крови следует соблюдать правила, описанные в следующих документах: «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность» (СанПиН 2.1.3. 2630-10 от 30.09.2010); Санитарно-эпидемиологические правила «Профилактика ВИЧ-инфекции» (СП 3.1.5. 2826 от 11.01.2011).

⚠ Плазма-калибратор получена из плазмы крови человека, карантинизированной и проверенной на отсутствие антител к ВИЧ 1, 2, вирусу гепатита С и HBsAg. Тем не менее, не следует исключать остаточного минимального риска при работе с набором, поскольку плазма крови человека является потенциально опасным биологическим материалом.

В состав компонентов набора АЧТВ-реагент и АЧТВ-реагент с активатором входит альбумин человека, полученный из плазмы крови, являющейся потенциально опасным биологическим материалом.

При работе следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, так как образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирусы гепатита В и гепатита С или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Коагулометр любого типа с набором пластиковых кювет*;
- центрифуга лабораторная;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл и 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М) или
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- мерный цилиндр вместимостью 100 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

*Примечание – набор Протеин С-скрининг тест совместим со всеми типами анализаторов, предназначенных для коагулологических исследований параметров гемостаза.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов Протеин С-скрининг тест предназначен для определения нарушений в системе Протеина С в плазме крови человека. Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

Процедура получения биологического материала

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% (0,109 моль/л) цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C в течение 15 минут при 3000 об/мин (1200g).

Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 4 часов при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C и не более 8 часов при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре от минус 18 до минус 20°C и хранение при этой температуре не более 2 месяцев.

Ограничения по использованию биологического материала

Образцы плазмы пациентов, содержащие гепарин, должны быть исключены из исследования.

При работе с кровью общим правилом является немедленное отделение плазмы от форменных элементов, так как некоторые вещества могут поглощаться и инактивироваться эритроцитами и лейкоцитами.

Повторное замораживание образцов исследуемой плазмы не допускается, т.к. при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная деградация белков.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

АЧТВ-реагент. Во флакон с АЧТВ-реагентом внести 2 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после приготовления.

АЧТВ-реагент с активатором. Во флакон с АЧТВ-реагентом с активатором внести 2 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после приготовления.

Плазма-калибратор. Во флакон с лиофильно высушенной плазмой-калибратором внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Раствор готов к проведению анализа через 20 минут после приготовления.

Кальция хлористый 0,025М раствор. Является готовым реагентом для проведения анализа. Перед анализом прогреть при 37°C. Повторно прогревать вскрытый флакон не рекомендуется.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

При проведении анализа определяют 4 показателя:

АЧТВ плазмы-калибратора без активатора;

АЧТВ плазмы-калибратора с активатором;

АЧТВ плазмы больного без активатора;

АЧТВ плазмы больного с активатором

Проведение анализа

АЧТВ-реагенты не прогревать при 37°C перед анализами.

Внести в кювету анализатора	АЧТВ актив.	АЧТВ
Исследуемая плазма	50 мкл	50 мкл
АЧТВ-реагент	-	50 мкл
АЧТВ-реагент с активатором	50 мкл	-
Инкубировать 3 мин при 37°C		
Кальция хлористый 0,025М раствор	50 мкл	50 мкл

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

В процессе измерения АЧТВ зарегистрировать время от момента добавления в кювету коагулометра раствора кальция хлорида до момента образования сгустка.

РАСЧЕТЫ

Результаты определения активности системы протеина С принято выражать в виде Нормализованного Отношения (НО):

$$НО = \frac{(АЧТВ_{актив} / АЧТВ)_{больн}}{(АЧТВ_{актив} / АЧТВ)_{калибр}} \times НО_{калибр}$$

где: НО_{калибр} – Нормализованное Отношение плазмы-калибратора, указано в паспорте на набор.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

У здоровых лиц НО составляет 1.0±0.3 (М ± 2σ). Значение НО ниже 0,7 свидетельствует о значительных нарушениях в Системе протеина С (функциональная неполноценность, сниженный синтез протеина С, протеина S) или о наличии мутантного фактора V (Лейден), резистентного к действию протеина С.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения Нормализованного Отношения следует контролировать с помощью контрольных плазм НПО РЕНАМ:

Плазма контрольная с нормальным и со сниженным уровнем протеина С (Плазма-Протеин С) по ТУ 9398-006-055 95541-2011, код ПФА-6/7.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 24 месяца. Не использовать набор после истечения срока годности!

Набор стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в упорном виде в холодильнике при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается хранение при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание наборов не допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат!

Растворенные компоненты набора следует хранить в плотно закупоренном состоянии.

Стабильность приготовленных реагентов

Реагенты	+2-8°C	+18-25°C	-18-20°C
АЧТВ-реагент	7 дней	2 дня	-
АЧТВ-реагент с активатором	7 дней	2 дня	-
Раствор плазмы-калибратора	8 часов	2 часа	2 месяца
Кальций хлористый 0,025 М	24 месяца		-

Кальций хлористый 0,025 М раствор следует хранить при температуре плюс 37°C не более 8 часов.

Транспортирование наборов должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора Протеин С-скрининг тест требованиям Технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с набором Протеин С-скрининг тест с использованием образцов плазмы крови пациентов и наборы с истекшим сроком годности относятся к классу Б.

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на три четверти, завязывают, маркируют надписью: «Отходы. Класс Б», наносят на бирку название организации, дату и ФИО исполнителя и помещают на участок временного хранения до вывоза транспортом специального подразделения к месту обеззараживания и утилизации.

Вывоз отходов класса Б для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Б осуществляется в соответствии с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к порядку накопления, транспортирования, обезвреживания и захоронения токсичных промышленных отходов.

СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

Символ	Наименование символа
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Биологический риск
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель

Дата утверждения инструкции 3 марта 2009 г.

ЛИТЕРАТУРА

- Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., «Ньюдиамед», 2001.- 285 с.
- Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000.- 360 с.
- Яровая Г.А., Нешкова Е.А., Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.В., Мелкумян А.Л. Внутренний путь свертывания крови. Учебно-методическое пособие. М. ФГБОУ ДПО РМАНПО, 2017.- 83 с.

ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

- ГОСТ Р 51088-2013. Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.
- ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
- ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация. Предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
- ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
- ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.
- ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции.
- ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия.
- ГОСТ Р ЕН 13612-2010 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ЕН 13641-2010 Устранение или снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro.
- Приказ Минздрава России от 19.01.2017 г №11н «Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинских изделий».

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2. Тел (804)333-22-61, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru сайт www.renam.ru