

ИНСТРУКЦИЯ

По применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения активности протеина С оптическим методом (Реахром-Протеин С) по ТУ 9398-019-05595541-2008».

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения активности протеина С оптическим методом (Реахром-Протеин С) по ТУ 9398-019-05595541-2008» (сокращенное наименование – «Реахром-Протеин С») предназначено для определения активности протеина С в плазме крови методом с хромогенным субстратом как вручную, так и на всех типах анализаторов, имеющих оптический канал регистрации при длине волны 405 нм.

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

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

Диагностическая роль. 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). Нарушения в системе 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.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**Состав набора:**

Активатор протеина С лиофильно высушенный - 5 мл/флакон – 2 шт.;
Плазма-калибратор лиофильно высушенная - 1 мл/флакон – 1 шт.;
Хромогенный субстрат лиофильно высушенный - 2мл/флакон – 2шт.;
Буфер концентрированный - 2 мл/флакон – 1шт.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 20 – 100 определений в зависимости от типа используемого анализатора.

Принцип метода.

Метод определения активности протеина С в образце плазмы основан на способности активированного протеина С гидролизовать пептидный хромогенный субстрат. Количество высвобождаемого при этом пара-нитроанилина (pNA) прямо пропорционально активности протеина С в образце плазмы. Протеин С плазмы активируется при добавлении к ней очищенного экстракта яда Agkistrodon contortrix contortrix.

Процесс идет по следующей схеме:

Протеин С + активатор (избыток) ⇒ Активир.ПрС

Активир.ПрС + Пептид-pNA ⇒ Пептид + pNA (желтый)

МЕТОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КАЛИБРАТОРУ

Активность протеина С в плазме-калибраторе устанавливают при аттестации каждой серии против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против 2-го Международного Стандарта Протеина С в плазме, код 02/342, полученного из National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Значения активности протеина С в плазме-калибраторе указано в паспорте медицинского изделия.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**Специфичность**

Следующие вещества не влияют на правильность определения протеина С: билирубин в концентрации не более 0,2 г/л, свободный гемоглобин – не более 2 г/л, триглицериды – не более 10 г/л. При превышении указанных концентраций возможно получение ложно положительных результатов.

Чувствительность

Минимальная активность протеина С, определяемая набором Реахром-Протеин С - не более 10%.

Воспроизводимость

Активность протеина С в плазме-калибраторе составляет 80-120%. Допустимое отклонение активности протеина С в плазме-калибраторе от аттестованного значения не более 5%. Коэффициент вариации результатов определения активности протеина С не превышает 5%.

Допустимый разброс результатов определения активности протеина С в одной пробе крови разными наборами одной серии не превышает 5%.

Линейность определения в диапазоне определяемых активностей

Линейность определения активности протеина С зависит от модели коагулометра. Отклонение от линейности в диапазоне активности протеина С от 10 до 100% не более 5%.

Значения активности, соответствующие нормальным

Нормальный диапазон значений протеина С, полученный при определении набором Реахром-Протеин С у не менее 100 здоровых доноров, составляет 70-140%, что соответствует биологическому референтному интервалу [1].

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Набор реагентов Реахром-Протеин С 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).

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. 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 их следует рассматривать как потенциально вирус-опасные.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Автоматический коагулометр открытого типа с оптической системой регистрации результатов реакции.
- спектрофотометр, ФЭК, биохимический, коагулологический или любой другой анализатор, имеющий длину волны для регистрации 405 нм;
- центрифуга лабораторная;
- секундомер;
- термостат, поддерживающий температуру 37±1°C;
- 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;
- уксусная кислота 50% концентрации;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**Вид анализируемого биологического материала**

Набор реагентов Реахром-Протеин С предназначен для определения активности протеина С в плазме крови. 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

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

Рабочий буферный раствор. Буфер концентрированный (2 мл) развести дистиллированной водой в 20 раз (1:19). Рабочий буферный раствор должен иметь pH=8,25±0,05.

Активатор Протеина С. Во флакон с лиофильно высушенным Активатором Протеина С внести 5 мл рабочего буферного раствора и растворить содержимое осторожным покачиванием. Готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

Раствор хромогенного субстрата. Во флакон с хромогенным субстратом внести 2 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

Раствор плазмы-калибратора. Во флакон с плазмой-калибратором внести 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном покачивании. Готов к проведению анализа через 20 минут после разведения.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**Проведение анализа на автоматическом анализаторе**

- Выбрать на анализаторе программу для определения протеина С хромогенным методом.
- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки анализатора.
- Запустить программу Calibrate, калибровка прибора.
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу определения протеина С.
- Читать результаты.

Проведение анализа ручным методом и на полуавтоматическом коагулометре

Построение калибровочного графика

Использовать только пластиковые пробирки. Приготовить следующие разведения плазмы-калибратора:

Пробирка №	1	2	3	4
Разведение в	Без разведения	2 раза	4 раза	8 раз
Активность Протеина С в %	A*	0.5A	0.25A	0.125A
Рабочий буферный раствор, мл	-	0.2	0.2	0.2
Плазма-калибратор, мл	0.4	-	-	-
Перемешать и перенести в пробирку, мл		0.2	0.2	0.2

*A - активность протеина С в плазме-калибраторе, указана в паспорте на набор.

С каждым разведенным раствором плазмы-калибратора с установленной активностью протеина С, %, провести определение оптической плотности по методу, описанному ниже. На оси ординат (Y) по линейной шкале отложить величины оптической плотности (ед. опт. плотн.), полученные для каждого разведения плазмы-калибратора, а на оси абсцисс (X) по линейной шкале отложить соответствующую активность протеина С (%). Калибровочный график должен представлять собой восходящую прямую линию. Калибровочный график должен быть построен для каждой серии реагентов.

Проведение анализа.

Для анализа используется неразведенная плазма пациента.

Анализ проводится в пластиковых кюветках, термостабируемых при 37°C.

Внести в кювету:	Образец	Кювета сравнения
Активатор Протеина С, мкл	400	-
Исследуемая плазма (или плазма калибратор), мкл	50	-
Рабочий буферный раствор, мкл	-	1000
Перемешать и инкубировать при 37°C точно 5 мин		-
Раствор хромогенного субстрата, мкл	200	-
Перемешать и инкубировать при 37°C точно 5 мин		-
50% уксусная кислота, мкл	400	-

Измерить оптическую плотность образца против кюветы сравнения на спектрофотометре (ФЭКе) при длине волны 405 нм.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При проведение анализа на автоматическом анализаторе

Автоматический анализатор регистрирует скорость нарастания оптической плотности при расщеплении хромогенного субстрата.

При проведение анализа ручным методом и на полуавтоматическом коагулометре

Измерить оптическую плотность исследуемого образца против кюветы сравнения в оптическом канале анализатора или на спектрофотометре (ФЭКе) при длине волны 405 нм. По калибровочному графику определить активность протеина С, %.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Образцы с высоким уровнем активности протеина С могут выйти за пределы линейности, что приводит к искажению результатов. Поэтому точные значения активности протеина С для таких образцов могут быть получены при разведении исходной плазмы в 2 раза. При этом результат, считанный из калибровочного графика должен быть умножен на 2.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения активности протеина С следует контролировать с помощью реагента Плазма контрольная по ТУ 9398-026-05595541-2009, код КМ-2.

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 укупоренном 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 укупоренном состоянии.

Стабильность приготовленных реагентов

Реагенты	+2-8°C	+18-22°C	-18-20°C
Активатор Протеина С	5 дней	2 дня	2 мес.
Раствор хромогенного субстрата	7 дней	2 дня	2 мес.
Раствор плазмы – калибратора	8 часов	4 часа	2 мес.
Рабочий буферный раствор	2 мес.	5 дней	-

Транспортирование наборов должно осуществляться при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов в соответствии с правилами перевозок, действующими на данном виде транспорта. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора Реахром-Протеин С 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 Реахром-Протеин С с использованием образцов плазмы крови пациентов 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.

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 наборы реагентов Реахром-Протеин С, не подлежащие использованию, и наборы с истекшим сроком годности относятся к отходам класса Г. Сбор и временное хранение отходов класса Г осуществляется в маркированные емкости («Отходы. Класс Г»). Диагностические средства собираются в одноразовую маркированную упаковку любого цвета (кроме желтого и красного) в соответствии с требованиями нормативных документов в зависимости от класса опасности отходов. Вывоз отходов класса Г для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Г 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
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель

Дата утверждения инструкции 30 мая 2008 г.

ЛИТЕРАТУРА И НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

- Алан, Г.Б. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам / Г.Б. Алан. – М.: Лабора, 2013. – 1280 с.
- Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушения гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 292 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.
- Vinazzer H, Pangraz U. Protein C: comparison of different assays in normal and abnormal plasma samples. Thromb Res. 1987; 46: 1-8
- Sturk A, Morrien-Salmons WM, Huismans MV, et al. Analytical and clinical evaluation of commercial protein C assays. Clin Chim Acta. 1987; 165: 263-70
- 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 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
- 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/факс (499) 707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru