



УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО фирмы
«Технология-Стандарт»

А.П. Момот

2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения протеина С (ХромоТех-Протеин 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 VIIIa 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».

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:

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

где:

K - коэффициент пересчета;

$PC \% (\text{плазмы-калибратора})$ - активность протеина C в плазме-калибраторе в процентах (см. паспорт к набору);

$\Delta A / \text{мин} (\text{плазмы-калибратора})$ - результат изменения оптической плотности плазмы-калибратора за минуту ($A/\text{мин}$).

Активность протеина C в исследуемой плазме определить по формуле:

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

где:

$PC \% (\text{иссл. плазмы})$ - активность протеина C в исследуемом образце в процентах (см. паспорт к набору);

K - коэффициент пересчета;

$\Delta A / \text{мин} (\text{иссл. плазмы})$ - результат изменения оптической плотности исследуемой плазмы за минуту ($A/\text{мин}$).

У здоровых людей активность протеина C 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 НАБОРА

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

Хранение набора должно проводиться при температуре $+2... +8$ °C в течение всего срока годности набора (18 мес) в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается транспортировка при температуре до $+25$ °C 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 C и хромогенного субстрата хранить при комнатной температуре ($+18... +25$ °C) не более суток, при температуре $+2... +8$ °C - не более 7 дней в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим. Допускается однократное замораживание при $-16... -70$ °C 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 $+2... +8$ °C - 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>.

Составители:

Директор ООО фирмы

«Технология-Стандарт» д.м.н., проф. _____

А.П. Момот

Зам. директора ООО фирмы

«Технология-Стандарт» д.м.н., проф. _____

И.И. Шахматов

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«03» 06 2016 г. _____



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 5 ЛИСТОВ
« 03 » 06 201 6 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ – МЕДЦЕНТР»

И.К. Варнавичус

