

ДІАГНОСТИЧНИЙ НАБІР ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКОСТІ БІЛКА S У ПЛАЗМІ ЛЮДИНИ

07204, Dia-Protein S

Каталог. №:07204

Методика від 07-2014

Виробник :**Diagon (Угорщина)**



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Для визначення функціональних рівнів білка S у плазмі людини шляхом згортання. Білок S - це вітамін К-залежний білок, синтезований у печінці, судинному ендотелію та мегакаріоцитах, який відіграє важливу роль в Антікоагуляційній системі 1,2 білка С. Ця антикоагулянтна система є одним з основних регуляторів гемостазу, гальмуючи утворення згустків та сприяючи фібринолізу. Протеїн С функціонує як кофактор активованого протеїну С на судинній мембрані для полегшення деградації коефіцієнтів згортання Va та VIIIa, що знижують регуляцію утворення згустків.

У звичайній плазмі приблизно 40% протеїну S циркулює як вільна молекула, тоді як 60% завершується як С4b, плазмовий білок класичного шляху комплекменту. Тільки вільний білок S функціонально активний і здатний зв'язуватися з активованим протеїном С, на відміну від комплексоутворювальної форми протеїну S. Аналіз на Dia-білок S (згусток) визначає кількість функціонального протеїну S у плазмі. У цьому аналізі розведення нормальної плазми змішують з плазмою білка С. Змішана плазма потім активується реагентами, які містять активований протеїн С, інші білки плазми людини та фосфоліпіди.

Після активації згортання починається шляхом додавання хлориду кальцію. аРС людини та інші білки плазми додають у таких кількостях, щоб нормалізувати будь-які недоліки у зразку хворого, запобігаючи хибно-позитивних або негативних результатів функціональності білка S. Таким чином, подовження часу згортання безпосередньо пов'язане з концентрацією білка S у плазмі пацієнта.



ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Реагенти, що містяться в даному наборі, призначені для діагностики in vitro лише під професійним керівництвом.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Реагенти, що містяться в цьому наборі, призначені лише для діагностики in vitro - **НЕ КОВТАТИ!**

Одягайте рукавички при роботі з усіма компонентами набору. Плазмові продукти було екрановано та виявлено негативними щодо присутності антигену гепатиту В (HbsAg), антитіла 1 і 2 ВГС та антитіла HCV; однак, з ними слід поводитись з такими ж застереженнями, як і з зразком плазми людини. Всі імунодефіковані плазми є негативними для ВГС.

ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ

Зверніться до даних щодо безпеки продукції для ризиків та правил безпеки та їх утилізації.

НАДАНИ МАТЕРІАЛИ

Компонент	Вміст	Опис	Підготовка
Активатор білка S	4 x 1 мл	Активовані протеїни С, Polybrene® та наповнювачі.	Розведіть в 1 мл очищеної води. Дайте настояться 20 хвилин і добре перемішайте перед використанням,

Плазма дефіцитного білка S	4 x 1 мл	Імунно виснажена плазма людини дефіцитного білка S.	Розведіть в 1 мл очищеної води. Дайте настояться 20 хвилин і добре перемішайте перед використанням, не збовтуйте.
Субстрат білка S	4 x 1 мл	Білки плазми людини і стабілізатори.	Розведіть з 1 мл Розріджувачем для субстрату. Дайте настояться 20 хвилин і добре перемішайте перед використанням, не збовтуйте.
Розріджувач для субстрату	2 x 2 мл	Еллагідна кислота, фосфоліпіди, буфери, стабілізатори та консерванти (включаючи 0,2% фенолу).	Реагент готовий до використання у такому вигляді, як в упаковці. Обережно перевіряйте флакони кілька разів, доки гомогенна суспензія не буде отримано.
Розчин хлориду кальцію 0,025M	2 x 5 мл	0,025M хлориду кальцію.	Реагент готовий до використання у такому вигляді, як в упаковці.
Фізіологічний розчин: 0,9%	2 x 25 мл	0,9% хлориду натрію та 0,09% азиду натрію як консервант.	Реагент готовий до використання у такому вигляді, як в упаковці.
У кожному наборі містяться інструкції щодо використання.			

НЕНАДАНИ, АЛЕ ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ

Каталог. №: 09605 Dia-Cal Spec

Каталог. №: 09305 Dia-Cont Spec N

Каталог. №: 09405 Dia-Cont Spec P



ЗБЕРІГАННЯ І СТАБІЛЬНІСТЬ

Невідкриті флакони стабільні до закінчення терміну придатності при зберіганні у відповідних умовах.

Активатор білка S	Відновлені флакони стабільні впродовж 1 тижня при +2 - +8 ° C або 8 годин при кімнатній температурі. НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!
Плазма дефіцитного білка S	Відновлені флакони стабільні 8 годин при +2 - +8 ° C, 4 години при кімнатній температурі і 1 місяць при температурі -20 ° C, якщо розморозувати тільки один раз.
Субстрат білка С	Відновлені флакони стабільні до 8 годин при +2 - +8 ° C і 3,5 години при кімнатній температурі. НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!
Розріджувач субстрату	Відкритий флакон повинен бути стабільним до вказаного терміну придатності. НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!
Розчин хлориду кальцію 0,025M	Відкритий флакон повинен бути стабільним до вказаного терміну придатності. НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!
Фізіологічний розчин: 0,9%	Відкритий флакон повинен бути

стабільним до вказаного терміну придатності. **НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!**

ЗАБІР ЗРАЗКА І ПІДГОТОВКА

Пластикове або силіконове скло слід використовувати увесь час. Забір крові (9 частин) слід робити в 3,2% або 3,8% антикоагулянті натрію цитрату (1 частина). Окремі плазми після центрифугування при 1500 x г упродовж 15 хвилин. Плазму слід зберігати при температурі $+2 - + 8^{\circ}\text{C}$ або $+18 - + 24^{\circ}\text{C}$. Тестування має бути завершено упродовж 4 годин після збору зразків або плазма може зберігатися заморожена при -20°C упродовж 2 тижнів або -70°C упродовж 6 місяців. Перед тестуванням швидко розморозьте при температурі $+37^{\circ}\text{C}$. Не тримайте при $+37^{\circ}\text{C}$ більше 5 хвилин.



ПРОЦЕДУРА

Рекомендується проводити тести в двох примірниках.

Примітка. Нова стандартна крива повинна бути побудована кожного разу при проведенні аналізу. Переконайтеся в тому, що достатня кількість кожного реагенту відновлюється для завершення всіх випробувань. Об'єднайте флакони, якщо це необхідно.

А. Ручний метод

- Розведіть необхідні флакони реагенту. Помістіть розчин хлориду кальцію Dia-CaCl_2 в інкубатор з температурою $+37^{\circ}\text{C}$.
- Підготуйте запасний стандарт, змішуючи 200 мкл нормальної плазми з 1800 мкл сольового розчину.
- Негайно використайте запасний стандарт, щоб зробити наступні розведення стандарту:

Розведення	Обсяг стандарту (мкл)	Обсяг сольового розчину (мкл)	Активність (%)
1	400	0	100
2	300	100	75
3	200	200	50
4	100	300	25
5	0	400	0

- Підготувати пацієнта та контрольні розведення, додавши 50 мкл плазми до 450 мкл фізіологічного розчину. Зберігайте всі розведення стандарту, пацієнта та контролю на льоду та тестуйте впродовж 30 хвилин.
- До коагуляційної кювети додайте 100 мкл плазми дефіцитного білка S.
- Додайте 100 мкл стандарту, контролю або розрідження пацієнта.
- Додайте 100 мкл реагенту активатора протеїну S.
- Додайте 100 мкл субстратного реагенту білка S.
- Інкубуйте впродовж 3 хвилин при 37°C .
- Додайте 100 мкл розчину хлориду кальцію та увімкніть таймер.
- Зазначте час згортання до найближчих 0,1 секунди.
- Позначте активність протеїну S (вись X) та час згортання крові (вись Y) на лінійному графічному папері.
- Інтерполюйте пацієнта та контрольні значення з прямої лінії калібрування.

В. Автоматизований кінетичний метод

Посилайтесь на відповідні посібники з використання приладів для детальних інструкцій або зв'яжіться з Товариством з обмеженою діяльністю Diagon для спеціальних посібників щодо застосування інструментів.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Дефіцит білка S, вроджений або набутий, може призвести до серйозних тромбоутворюючих явищ, таких як: тромбофлебіт, тромбоз глибоких вен, або легенева емболія. Поширеність дефіциту білка S – менше одного випадку на 300 осіб. Дві третини пацієнтів із вродженим дефіцитом білка S (рівні менше 50% від норми) можуть мати венозний тромбоз у молодому віці. У молодих пацієнтів (<35 років) з анамнезом тромбозу поширеність може становити від 15% до 18%. Дефіцит набутого протеїну S може спостерігатися під час вагітності, приймання засобів пероральної контрацепції або пероральної антикоагулянтної терапії, захворювань печінки, цукрового діабету, післяопераційних ускладнень, септицемії та різних запальних синдромів. Знижена активність білків S у плазмі може бути результатом низької концентрації або аномальної функції молекули протеїну S. Зниження білка S пов'язується із збільшенням частоти тромбоемболії. Зниження активності білка S не обов'язково свідчить про

зниження концентрації. Лабораторна діагностика дефіциту білка S може потребувати як якісного (функціонального), так і кількісного визначення (рівня антигену).

ОБМЕЖЕННЯ

- > 150% білка S. Пацієнти з високим рівнем білка S повинні пройти тестування кількома розчинами, щоб отримати точні результати. Вирівняні рівні білка S з щонайменше 2 розведеннями повинні бути узгодженими.
- Втручання гепарину/варфарину. Гепарин при рівнях >1 Од/мл може заважати збільшенню часу згортання крові та збільшенню очевидних значень білка S. Варфаринізація може вплинути на результати білків S.
- LA / APA. Позитивні зразки з вовчаковими антитілами з тривалим часом aPTT можуть давати неправильні значення білка S і повинні бути підтверджені аналізом вільного антигену.
- Фактор В. Лейдена. Рівні білка S, що мають граничний або низько функціональний рівень у пацієнтів з фактором V Лейдена повинні бути підтверджені вільним аналізом антигену білка S.
- Інтерференція інгібіторів тромбіну. Інгібітори тромбіну (гірудин, бівалірудин та ін.) у зразку хворого можуть призвести до переоцінки білка S.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожна лабораторія повинна встановити програму контролю якості. Нормальний та ненормальний контроль плазми повинен бути перевірений перед кожною партією зразків пацієнтів, щоб забезпечити задовільний показник роботи та роботи оператора. Якщо засоби контролю не виконуються згідно з очікуваннями, не потрібно починати вимірювання біологічного матеріалу пацієнта. Товариство з обмеженою діяльністю Diagon постачає наступні елементи контролю, доступні для використання з такою продукцією: Каталог. №: 09305 Dia-Cont Spec N Каталог. №: 09405 Dia-Cont Spec P

НОРМАЛЬНІ ЗНАЧЕННЯ

Нормальні значення можуть відрізнятися між лабораторіями залежно від техніки та систем, що використовуються. З цієї причини кожна лабораторія повинна встановити власний діапазон норми. Очікуваний нормальний діапазон для білків S залежить від статі.

Чоловіки	63,5 – 167,9%
Жінки	56,7 – 147,2%

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Товариство з обмеженою діяльністю Diagon за допомогою фотооптичного коагуляційного приладу встановило наступні вказівні характеристики процедури роботи.

Кожна лабораторія повинна встановити власні дані процедури роботи.

ТОЧНІСТЬ










У дослідженнях, де відновлення плазми білка S визначалося після додавання різних рівнів білка S до плазми дефіциту білка S, було досягнуто очікуваного відновлення.

Відтворюваність	Точність в аналізі		Точність між аналізами			
	Зразок	n	Рівень білка S (%)	CV (%)	Рівень білка S (%)	CV (%)
Спеціальний аналізований контроль P	1	1	68.6	1.5	68.9	3.61
	0	0		5		
Спеціальний аналізований контроль N	1	1	156.8	2.5	151.9	4.90
	0	0		7		

ПОСИЛАННЯ

- DiScipio RG, Davie, EW (1979) Characterisation of Protein S; a gamma-carboxyglutamic acid containing protein from bovine and human plasma, *Biochemistry*, 18:899-904
- Dahlback B (1984) Purification of human vitamin K-dependent Protein S and its limited proteolysis by thrombin, *Biochem J*, 209:837-846
- Walker FJ (1984) Protein S and the Regulation of Activated Protein C, *Semin. Thromb. Hemost.*, 10:131-138
- Dahlback B (1991) Protein S and C4b-Binding Protein: Components involved in the regulation of the Protein C Anticoagulant System, *Thromb. Haemost.*, 66:49-61

5. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
6. Comp PC, Nixon RR, et al. Familial Protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis, J. Clin. Invest,74:2082-2088
7. Walker FJ (1992) Protein S and Thrombotic Disease, PSEBM,200:285-295
8. Gladson CL et al. (1988) The frequency of type I heterozygous Protein S and Protein C deficiency in 141 unrelated young patients with venous thrombosis, Thromb. Haemost,59:18-22
9. Alving BM, Comp PC (1992) Recent advances in understanding clotting and evaluating patients with recurrent thrombosis, Am. J. Obstet. Gynecol, 167:1184-1191
10. Bertina RM (1985) Hereditary Protein S deficiency, Haemostasis,15:241-245
11. Comp PC (1990) Laboratory evaluation of Protein S status, Semin. Thromb. Haemost,15:177-181

Символи			
	Прилади для діагностики in vitro		Перевірити з інструкцією користувача
	Біозахист		Діапазон температури
	Виробник		Термін придатності
	Номер партії		Знак відповідності CE
	Номер у каталозі		



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
 вул. Чорновола, 97
 м. Івано-Франківськ, 76005
 тел.: +38 (0342) 775 122
 факс: +38 (0342) 775 123
 e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com



© Переклад на українську мову ТОВ «ДІАМЕБ»