

Свертываемость S - белка

Кат. №	Наим. на упаковке	Содержимое упаковки
HL00010	Erba Protein S Clotting	Реагент 1: 2 шт. активатора S-белка × 1 мл Реагент 2: 2 шт. плазмы с дефицитом S-белка × 1 мл Реагент 3: 2 шт. субстрата S-белка × 1 мл Реагент 4: 1 шт. растворителя субстрата S-белка × 2 мл Реагент 5: 1 шт. 0,025-молярного CaCl ₂ × 5 мл Реагент 6: 1 шт. 0,9% соляного раствора × 25 мл

НАЗНАЧЕНИЕ

Erba Protein S Clotting предназначен для определения функциональных уровней S-белка в плазме крови человека с помощью анализа на свертываемость крови.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

S-белок — это витамин K-зависимый белок, синтезируемый в печени, сосудистом эндотелии и мегакариоцитах, который играет важную физиологическую роль в системе антикоагулянтного C-белка. Эта антикоагулянтная система является одним из основных регуляторов гемостаза и функционирует путем ингибирования образования тромбов и содействия фибринолізу. S-белок функционирует на сосудистой оболочке как кофактор активированного C-белка и обеспечивает распад факторов свертывания крови Va и VIIIa, регулируя образование тромба в сторону уменьшения. В нормальной плазме примерно 40% S-белка циркулирует в свободном виде, в то время как 60% — в виде комплекса с C4b, белком плазмы крови классического пути активации комплемента. Только свободный S-белок функционально активен и способен связываться с активированным C-белком, в то время как комплекс S-белка и C4b — нет.

ПРИНЦИП

Анализ Erba Protein S Clotting определяет количество функционального S-белка в плазме. При этом анализе растворы нормальной плазмы смешивают с плазмой, не содержащей S-белок.

Приготовленная плазма затем активируется с помощью реагентов, содержащих активированный C-белок, другие белки плазмы крови человека, а также фосфолипиды. После активации свертывание инициируется путем добавления хлорида кальция. Человеческий активированный C-белок и другие белки плазмы добавляют в таких количествах, чтобы нормализовать какие-либо недостатки в образце пациента, предотвращая ложные положительные или отрицательные результаты функционирования S-белков. Увеличение времени свертывания, таким образом, непосредственно связано с концентрацией S-белка в плазме пациента.

СОСТАВ

Реагент 1 — активатор S-белка: активированный полибрен C-белка и наполнители.

Реагент 2 — плазма без содержания S-белка: иммуноистощенная плазма крови человека без содержания S-белка.

Реагент 3 — субстрат S-белка: белки и стабилизаторы плазмы крови человека.

Реагент 4 — растворитель субстрата S-белка: эллаговая кислота, фосфолипиды, буферы, стабилизаторы и консерванты (в том числе 0,2% фенол).

Реагент 5 — 0,025-молярный CaCl₂: 0,025-молярный хлорид кальция.

Реагент 6 — 0,9% солевой раствор: 0,9% хлорида натрия и 0,09% азиды натрия в качестве консерванта.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для лабораторной диагностики. Эти реагенты должны использоваться только сертифицированным медицинским персоналом лаборатории.
- Не принимать внутрь.
- Надевайте перчатки при работе с какими-либо веществами из набора.
- Во избежание загрязнений пользуйтесь только чистыми или одноразовыми лабораторными принадлежностями.
- Остатки реагентов надлежит утилизировать в соответствии с внутренними, местными и государственными требованиями, касающимися безопасного обращения с отходами.

Реагент 1 содержит <30% барбитала и <10% азиды натрия.

Опасность!

Виды опасного воздействия

N301 Токсичен при проглатывании.

N412 Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями.

EUN032 При контакте с кислотами выделяет очень токсичный газ.

Меры предосторожности

P273 Избегать высвобождения в окружающую среду.

P280 При работе пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз.

P301 + P310 При попадании внутрь: немедленно обратиться в токсикологический центр или к врачу.

Внимание — Потенциально биологически опасное вещество

Некоторые реагенты, включенные в этот набор, содержат материалы человеческого и/или животного происхождения. Всякий раз, когда для приготовления этих реагентов требуется плазма крови человека, она тестируется на антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и вирусу гепатита С, а также на поверхностный антиген гепатита В, и результаты оказываются отрицательными.

Тем не менее, ни один метод тестирования не может гарантировать полного отсутствия инфекционных агентов. Таким образом, лица, использующие эти реагенты, должны проявлять крайнюю осторожность в полном соответствии с предписанными мерами безопасности при обращении с ними, так, как если бы они представляли опасность заражения.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

Реагент 1 — активатор S-белка и Реагент 2 — плазма без S-белка: восстановить 1 мл очищенной воды. Дать постоять в течение 20 минут и хорошо перемешать перед использованием.

Реагент 3 — субстрат S-белка: восстановить 1 мл растворителя субстрата S-белка. Дать постоять в течение 20 минут и хорошо перемешать перед использованием.

Реагент 4 — растворитель субстрата S-белка: готов к использованию. Аккуратно переверните флаконы несколько раз до тех пор, пока не образуется однородная взвесь.

Реагент 5 — 0,025-молярный CaCl₂: готов к использованию.

Реагент 6 — 0,9% солевой раствор: готов к использованию.

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ

Закрытые реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе и на этикетке набора, при хранении при температуре 2—8 °С. Восстановленные реагенты стабильны в течение:

Реагент 1 — активатор S-белка:

- до 1 недели при 2—8 °С;
- 8 часов при комнатной температуре.

Не замораживать.

Реагент 2 — плазма без содержания S-белка:

- 8 часов при 2—8 °С.
- 4 часов при комнатной температуре;
- 1 месяца при –20 °С, при однократном размораживании.

Реагент 3 — субстрат S-белка:

- до 8 часов при 2—8 °С;
- 3,5 часов при комнатной температуре.

Не замораживать. Содержимое вскрытых флаконов реагентов 4, 5 и 6 стабильно до истечения указанного срока годности. Не замораживать.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ РЕАГЕНТЫ

- Erba Standard Plasma (кат. № ENL00012).

ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

При работе с реагентом необходимо пользоваться принадлежностями из органического или силиконизированного стекла. Кровь (9 частей) должна быть собрана 3,2% или 3,8% антикоагулянтном цитратом натрия (1 часть). Отделите плазму крови после центрифугирования при 1500 g в течение 15 минут. Плазму необходимо хранить при температуре 2—8 °С или 18—24 °С.

Проба должна быть проведена в течение 4-х часов с момента сбора образца или плазму можно хранить в замороженном состоянии при –20 °С в течение 2-х недель или –70 °С в течение 6-ти месяцев. Перед проведением пробы быстро разморозить при температуре 37 °С. Не хранить при 37 °С в течение более 5 минут.

ПРОЦЕДУРА

Ручной метод

Каждый раз, когда выполняется анализ, необходимо заново построить калибровочную кривую.

Восстановите содержимое необходимых флаконов с реагентом. Поместите 0,025-молярный раствор хлорида кальция в инкубатор при 37 °С.

Подготовка калибровочной кривой

- Подготовить стандартный раствор плазмы путем смешивания 200 мкл эталонной плазмы (Erba Standard Plasma, кат. № ENL00012) с 1800 мкл солевого раствора (Реагент 6).
- Немедленно использовать стандартный раствор плазмы для получения следующих стандартных растворов:

Пробирка	Объем станд. р-ра, мкл	Объем солев. р-ра, мкл	Активность, %
1	400	0	100
2	300	100	75
3	200	200	50
4	100	300	25
5	0	400	0

Подготовка образца пациента

- Подготовить растворы контрольной плазмы и плазмы пациента добавлением 50 мкл плазмы в 450 мкл солевого раствора. Держать все растворы контрольных плазм, стандартных плазм и плазм пациента и использовать в течение 30 минут.

Проба

• Пипетировать, в двух экземплярах, 0,1 мл плазмы без содержания S-белка в реакционную пробирку.

• Добавить 0,1 мл раствора контрольной плазмы, стандартной плазмы или плазмы пациента.

- Добавить 0,1 мл реагента активатора S-белка.
- Добавить 0,1 мл субстрата S-белка и инкубировать в течение 3 минут при 37°С.
- Добавить 0,1 мл раствора CaCl₂ и одновременно запустить секундомер.
- Измерить время свертывания крови с точностью до 0,1 секунды.
- Построить на миллиметровой бумаге график, на котором привести активность S-белка (отложить по оси абсцисс) в зависимости от времени образования тромба (отложить на оси ординат). Интерполировать значения пациентов и контрольные значения по прямой калибровочной линии.

• Определить время свертывания крови для каждого из растворов стандартной плазмы, контрольной плазмы или плазмы пациента.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Для разных лабораторий нормальные значения могут различаться в зависимости от применяющихся методов и используемых систем. По этой причине каждая лаборатория должна установить свой собственный нормальный диапазон. Ожидаемый нормальный диапазон значений для S-белка зависит от пола.

Мужчины 63,5—167,9%

Женщины 56,7—147,2%

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна внедрить программу контроля качества. Для обеспечения надлежащего качества рекомендуется использовать контрольные плазмы. Предлагается применять двухуровневый контроль качества: первый уровень служит для установления качества для образцов с близкими к нормальным значениям показателями пациента (Erba Control N, кат. № ENL00014 или Erba Control N Plus, кат. № ENL00016), а второй — для образцов с патологическими значениями (Erba Control P, кат. № ENL00015 или Erba Control P Plus, кат. № ENL00017).

ОГРАНИЧЕНИЯ

Для получения точных результатов проб образцы пациентов с высоким уровнем S-белка (> 150%) необходимо разбавить несколько раз. Пограничные или низкие функциональные уровни S-белка у пациентов с Лейденской тромбофилией фактора V должны быть подтверждены анализом на антиген свободного S-белка.

Интерференция

Гепарин и варфарин могут увеличивать время образования тромба и, следовательно, увеличивать значения содержания S-белка. Образцы, положительные на волчаночные антигены с увеличенным АЧТВ, могут давать ложные значения с высоким содержанием S-белка и должны быть подтверждены анализом на свободный антиген. Ингибитор тромбина (гирудин, билирубин и т. д.) в образце пациента может приводить к увеличению значения содержания S-белка.

Гемоглобин: отрицательное смещение от 4 г/л в патологической плазме (53%).

Билирубин: Положительное смещение от 175 мг/л (229 мкМ/л) в патологической плазме (45%).

Мутность: отрицательное смещение от 6 г/л (6,84 мМ/л) эквивалентных триглицеридов в патологической плазме (47%).

ПОКАЗАТЕЛИ

Приведенные показатели были получены при помощи анализатора ECL. При использовании различных устройств или ручной методики результаты могут отличаться.

Линейность

Реагент линеен в диапазоне от 0 до 170%.

Точность

	Внутрианалитическая точность (N = 20)		Межаналитическая точность (N = 20)	
Среднее, %	42,00	101,00	41,00	95,00
КВ, %	5,51	4,39	8,82	4,94

Антитромбин III (хромогенный анализ)

Кат. №	Наим. на упаковке	Содержимое упаковки
HL00008	Erba Chrom Antithrombin III	Реагент 1: 3 шт. фактора Ха антитромбина III × 2 мл Реагент 2: 3 шт. субстрата фактора Ха антитромбина III × 2 мл Реагент 3: 3 шт. растворителя антитромбина III × 3 мл

НАЗНАЧЕНИЕ

Erba Chrom Antithrombin III предназначен для количественного определения активности антитромбина III (АТ III) в цитратной плазме крови человека с помощью хромогенного анализа.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

АТ III является основным ингибитором свертывания крови, действуя на плазменные сериновые протеазы, включая факторы IXa, Ха, XIa и тромбин. Скорость ингибирования значительно увеличивается в присутствии гепарина. Дефицит АТ III может быть врожденным или приобретенным и связан с повышенным риском развития тромбоза^{1,2,3}. Недостаточность может возникнуть при заболевании печени, диссеминированном внутрисосудистом свертывании (ДВС- синдроме), септицемии, эмболии легочной артерии, почечном синдроме, инсульте и тромбозе.

ПРИНЦИП

Большинство функциональных анализов на АТ III основаны на способности плазмы инактивировать тромбин в присутствии гепарина. Совсем недавно было показано, что метод, основанный на способности плазмы ингибировать фактор Ха в присутствии гепарина может быть более точным, так как устраняет интерференцию кофактора II гепаринаб, который не ингибирует фактор Ха.

В настоящем методе фактор Ха добавляют к разбавленной плазме крови, содержащей АТ III, в присутствии избытка гепарина и кальция. После начального периода инкубации, остаточный фактор Ха определяется хромогенным субстратом, специфическим для фактора Ха. Остаточная активность фактора Ха обратно пропорциональна концентрации антитромбина III.

СОСТАВ

Реагент 1 — фактор Ха антитромбина III: содержит лиофилизированный фактор Ха крупного рогатого скота.

Реагент 2 — субстрат фактора Ха антитромбина III: содержит лиофилизированный CH3OCO-DCHA-Gly-Arg-pNA-AcOH.

Реагент 3 — растворитель антитромбина III: Содержит 5% концентрата буфера с содержанием азида натрия < 1% в качестве консерванта. Полностью разбавленный буфер содержит 0,05 М Трис-HCl, 0,175 М NaCl, 7,5 мМ Na2EDTA и гепарин натрия с pH = 8,4.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для лабораторной диагностики. Эти реагенты должны использоваться только сертифицированным медицинским персоналом лаборатории.
- Не принимать внутрь.
- Надевайте перчатки при работе с какими-либо веществами из набора.
- Во избежание загрязнений пользуйтесь только чистыми или одноразовыми лабораторными принадлежностями.
- Остатки реагентов надлежит утилизировать в соответствии с внутренними, местными и государственными требованиями, касающимися безопасного обращения с отходами.

Внимание — Потенциально биологически опасное вещество

Некоторые реагенты, включенные в этот набор, содержат материалы человеческого и/или животного происхождения. Всякий раз, когда для приготовления этих реагентов требуется плазма крови человека, она тестируется на антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и вирусу гепатита С, а также на поверхностный антиген гепатита В, и результаты оказываются отрицательными.

Тем не менее, ни один метод тестирования не может гарантировать полного отсутствия инфекционных агентов. Таким образом, лица, использующие эти реагенты, должны проявлять крайнюю осторожность в полном соответствии с предписанными мерами безопасности при обращении с ними, так, как если бы они представляли опасность заражения.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

Реагент 1 — фактор Ха антитромбина III: восстановить 2 мл дистиллированной/деионизированной воды. Дать постоять в течение 10 минут и перемешать перед использованием.

Реагент 2 — субстрат фактора Ха антитромбина III: восстановить 2 мл дистиллированной/деионизированной воды. Дать постоять в течение 10 минут и перемешать перед использованием.

Реагент 3 — растворитель антитромбина III: развести 1 меру растворителя в 4-х мерах дистиллированной/деионизированной воды.

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ

Закрытые реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе и на этикетке набора, при хранении при температуре 2—8 °С.

Восстановленные реагенты стабильны в течение:

- Реагент 1 — фактор Ха антитромбина III и Реагент 2 — субстрат фактора Ха антитромбина III:
 - 2-х месяцев при 2—8 °С;
 - 1-го месяца при 17 °С;
 - 2-х дней при температуре 37 °С.

Реагент 3 — растворитель АТ III: разбавленный буфер хранить в плотно закупоренной бутылке при температуре 2—8 °С и использовать в течение одного месяца.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ РЕАГЕНТЫ

- Erba Standard Plasma (кат. № EHL00012).

Кристаллизованная уксусная кислота.

ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

При работе с реагентом необходимо пользоваться принадлежностями из органического или силиконизированного стекла. Кровь (9 частей) должна быть собрана 3,2% или 3,8% антикоагулянтом цитратом натрия (1 часть). Отделите плазму крови после центрифугирования при 1500 γ в течение 15 минут. Плазму необходимо хранить при температуре 2—8 °С или 18—24 °С.

Проба должна быть проведена в течение 4-х часов с момента сбора образца или плазму можно хранить в замороженном состоянии при -20 °С в течение 2-х недель или -70 °С в течение 6-ти месяцев. Перед проведением пробы быстро разморозить при температуре 37 °С. Не хранить при 37 °С в течение более 5 минут.

ПРОЦЕДУРА

Ручной метод

Подготовка стандартного раствора (Erba Standard Plasma), контрольного раствора и раствора пациента:

АТ III, %	Плазма	Буфер для разбавления
100%	10 мкл станд. р-ра	990 мкл
50%	500 мкл 100% станд. р-ра	500 мкл
25%	500 мкл 50% станд. р-ра	500 мкл
12,5%	500 мкл 25% станд. р-ра	500 мкл
Контрольный или пациент	10 мкл плазмы	990 мкл

Полумикроскопический метод конечных точек

- Добавить 200 мкл раствора стандартной плазмы, контрольной плазмы или плазмы пациента в пробирку;
- Инкубировать при 37 °С в течение 2—4 минут;
- Добавить 200 мкл реагента фактора Ха и перемешать;
- Инкубировать при 37 °С в течение ровно 1 минуты;
- Добавить 200 мкл субстрата фактора Ха и перемешать;
- Инкубировать при 37 °С в течение ровно 3-х минут.
- Добавить 200 мкл уксусной кислоты (50%) и перемешать;
- Добавить 200 мкл воды⁹ (по необходимости).

Желтый цвет конечного продукта реакции стабилен в течение как минимум 4-х часов. Измерить поглощательную способность при длине волны 405 нм в сантиметровой полумикрокювете по отношению к заготовке, приготовленной следующим образом:

1. 200 мкл уксусной кислоты;
2. 200 мкл стандартного разбавителя;
3. 200 мкл реагента фактора Ха;
4. 200 мкл субстрата фактора Ха;
5. 200 мкл воды¹⁰ (по необходимости).

Если плазма пациента очень желтушная, необходимо подготовить вторую заготовку, содержащую раствор плазмы вместо стандартного раствора, и поглощательную способность

необходимо будет вычесть из поглощательной способности, полученной при определении АТ III пациента.

Кинетический метод

Для измерения начальной скорости гидролиза хромогенного субстрата может быть использован кинетический анализатор. В этом случае процедура будет следующая:

В реакционную кювету:

1. Добавить 200 мкл разведенной стандартной плазмы или плазмы пациента;
2. Инкубировать при 37 °С в течение 1 минуты;
3. Добавить 200 мкл реагента фактора Ха и перемешать;
4. Инкубировать при 37 °С в течение 1 минуты;
5. Добавить 200 мкл субстрата фактора Ха;
6. Замерять скорость изменения поглощательная способность при 405 нм в течение 1 минуты.

На миллиметровой бумаге отложите значения поглощательной способности для каждого из калибровочных стандартов АТ III на оси ординат, а % АТ III — на оси абсцисс. Линия наилучшего соответствия должна определяться методом линейного регрессионного анализа. АТ III в образцах плазмы может быть определен с помощью интерполяции по калибровочной кривой.

Концентрация АТ III в образце пациента должна быть скорректирована с учетом концентрации АТ III в стандартном образце:

$$\%AT\ III(\text{корр.}) = \frac{\%AT\ III(\text{пац.}) \times \%AT\ III(\text{станд.})}{100}$$

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Для разных лабораторий нормальные значения могут различаться в зависимости от применяющихся методов и используемых систем. По этой причине каждая лаборатория должна установить свой собственный нормальный диапазон. Нормальный диапазон активности АТ III в плазме 75—125%. Уровни активности плазмы в 30—60% может наблюдаться у пациентов с наследственной недостаточностью АТ III^{11,12}. Целый ряд клинических состояний связан с приобретенной недостаточностью АТ III, включая болезнь печени, ДВС-синдром, нефротический синдром, эмболию легочной артерии, инсульт и тромбофлебит. Кроме того, использование оральных контрацептивов может привести к снижению уровня АТ III¹³.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна внедрить программу контроля качества.

Для обеспечения надлежащего качества, рекомендуется использование контрольных плазм крови. Предлагается применять двухуровневый контроль качества: первый уровень служит для установления качества для образцов с близкими к нормальным значениям показателями пациента (Erba Control N, кат. № EHL00014 или Erba Control N Plus, кат. № EHL00016), а второй — для образцов с патологическими значениями (Erba Control P, кат. № EHL00015 или Erba Control P Plus, кат. № EHL00017).

ОГРАНИЧЕНИЯ

Избегать использования желтушных, липемических и гемолизированных образцов.

ПОКАЗАТЕЛИ

Приведенные показатели были получены при помощи анализатора ECL. При использовании различных устройств или ручной методики результаты могут отличаться.

Линейность: реагент Erba Chrom Antithrombin III дает значения линейной калибровки в диапазоне 10—140%.

Точность:

	Внутрианалитическая точность (N = 10)		Межаналитическая точность (N = 30)	
	AT III, %			
AT III, %	98,70	55,60	98,40	56,40
KB, %	0,52	1,38	0,44	2,79

C – белок (хромогенный анализ)

Кат. №	Наим. на упаковке	Содержимое упаковки
HL00009	Erba Chrom Protein C	Реагент 1: 2 шт. субстрата C-белка × 2 мл Реагент 2: 2 шт. активатора C-белка × 2 мл Реагент 3: 1 шт. растворителя C-белка × 5 мл

НАЗНАЧЕНИЕ

Анализ Erba Chrom Protein C предназначен для количественного определения содержания C-белка в плазме человека с использованием метода хромогенного анализа.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

C-белок — это белок, зависящий от витамина K и играющий важную роль в регуляции механизмов задерживания свертывания крови. Он может ингибировать коагуляцию путем инактивации факторов Va1 и VIIIa2 или может стимулировать фибринолиз при активации³. C-белок циркулирует как профермент и действием тромбина в присутствии тромбомодулина превращается в активную сериновую протеазу. Было установлено, что как наследственная, так и приобретенная недостаточность C-белка является фактором риска развития венозного тромбоза.

ПРИНЦИП

C-белок в плазме крови активируется определенной фракцией, полученной из яда змеи вида Agkistrodon contortrix. Количество активированного C-белка определяется путем измерения скорости гидролиза специфического хромогенного субстрата C-белка. Высвобождение п-нитроанилина измеряется при 405 нм и пропорционально уровню C-белка.

СОСТАВ

Реагент 1 — субстрат C-белка: 2,75 мкМ лиофилизированного субстрата руго-Glu-Pro-Arg-pНАНСI.

Реагент 2 — активатор C-белка: 0,8 единиц активатора из змеиного яда (Protac ®).

Реагент 3 — растворитель C-белка: буфер трис с азидом натрия в качестве консерванта.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для лабораторной диагностики. Эти реагенты должны использоваться только сертифицированным медицинским персоналом лаборатории.
- Не принимать внутрь.
- Надевайте перчатки при работе с какими-либо веществами из набора.
- Во избежание загрязнений пользуйтесь только чистыми или одноразовыми лабораторными принадлежностями.
- Остатки реагентов надлежит утилизировать в соответствии с внутренними, местными и государственными требованиями, касающимися безопасного обращения с отходами.

Реагенты 1 и 2 не классифицированы как опасные.

Растворитель реагента 3 содержит <1% имидазола.

Опасность !

Виды опасного воздействия

H360D Может нанести ущерб нерожденному ребенку.

EUN032 При контакте с кислотами выделяет очень токсичный газ.

Меры предосторожности

P202 Начинайте работу только после того, как прочитаете и поймете все меры безопасности.

P308 + P313 Если вы подверглись воздействию или обеспокоены, обратитесь к врачу.

P501 При уничтожении контейнера обращайтесь с ним, как с опасными отходами.

☠ Внимание — Потенциально биологически опасное вещество

Активатор C-белка содержит змеиный яд. Таким образом, лица, использующие этот реагент, должны проявлять крайнюю осторожность в полном соответствии с предписанными мерами безопасности при обращении с ним, так, как если бы он представлял опасность заражения.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

Реагент 1 — субстрат C-белка: восстановить содержимое каждого флакона 2 мл растворителя C-белка. Если смесь мутная, согреть при 37 °C в течение нескольких минут.

Реагент 2 — активатор C-белка: восстановить содержимое каждого флакона 2 мл деионизированной воды.

Реагент 3 — растворитель C-белка: готов к использованию.

Избегать загрязнения реагентов.

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ

Закрытые реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе и на этикетке набора, при хранении при температуре 2—8 °C.

Восстановленные реагенты (Реагент 1, Реагент 2) стабильны в течение:

- 1 недели при 2—8 °C;
- 1-го месяца при -20 °C.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ РЕАГЕНТЫ

- Erba Standard Plasma (кат. № EHL00012).
- Раствор NaCl (0,9%).

ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

При работе с реагентом необходимо пользоваться принадлежностями из органического или силиконизированного стекла. Кровь (9 частей) должна быть собрана 3,2% или 3,8% антикоагулянтном цитратом натрия (1 часть). Отделите плазму крови после центрифугирования при 1500 g в течение 15 минут. Плазму необходимо хранить при температуре 2—8 °C или 18—24 °C.

Проба должна быть проведена в течение 4-х часов с момента сбора образца или плазму можно хранить в замороженном состоянии при -20 °C в течение 2-х недель или -70 °C в течение 6-ти месяцев. Перед проведением пробы быстро разморозить при температуре 37 °C. Не хранить при 37 °C в течение более 5 минут.

Ошибочные результаты могут быть вызваны загрязнением тканевой жидкостью или стазом. Не перемешивать, не вспенивать и не допускать образования пузырьков воздуха. Для получения информации об эффектах от наиболее часто прописываемых лекарственных средств, обратитесь к работе Янга и др.

ПРОЦЕДУРА

Ручной метод

Калибровка

Подготовить стандартные плазмы и образцы плазмы пациентов следующим образом: важно: для разведения использовать только 0,9% растворы NaCl.

Стандарт, %	Плазма	Буфер для разбавления
100%	100 мкл Erba Standard Plasma	+ 300 мкл солевого раствора
50%	50 мкл Erba Standard Plasma pa	+ 350 мкл солевого раствора
0%	-	только 400 мкл солевого раствора
Пациент	100 мкл плазмы	+ 300 мкл солевого раствора

Анализ по методике конечных точек

В стеклянную или пластиковую пробирку:

- Добавить 100 мкл раствора стандартной плазмы или плазмы пациентов.
- Инкубировать при 37 °С в течение 2 минут.
- Добавить 200 мкл активатора С-белка и перемешать.
- Инкубировать при 37 °С в течение 5 минут.
- Добавить 200 мкл субстрата С-белка и перемешать.
- Инкубировать при 37 °С в течение 10 минут.
- Добавить 200 мкл уксусной кислоты и перемешать.
- Добавить 200 мкл воды (по необходимости).

Измерить поглощательную способность при длине волны 405 нм в сантиметровой полумикрокувете по отношению к заготовке, приготовленной с помощью деионизированной воды. До десяти измерений могут быть выполнены одновременно за один запуск секундомера посредством выполнения этапов пипетирования через равные интервалы в 5 секунд.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Для разных лабораторий нормальные значения могут различаться в зависимости от применяющихся методов и используемых систем. По этой причине каждая лаборатория должна установить свой собственный нормальный диапазон. Значения для С-белка, как правило, выражаются в процентном отношении по сравнению с нормальным уровнем в консервированной плазме. Бертина и др.7 в своей работе говорят о диапазоне 65—145% у здоровых людей, со снижением уровня содержания при антикоагулянтной терапии. По-видимому, у здоровых мужчин и женщин отсутствует разница в количестве С-белка.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна внедрить программу контроля качества.

Для обеспечения удовлетворительной работы прибора и оператора, необходимо проводить пробы нормальных и аномальных контрольных плазм перед каждой серией проб образцов пациентов. Если контрольные плазмы не дали ожидаемых результатов, результаты проб образцов пациентов должны быть признаны недействительными.

Предлагается применять двухуровневый контроль качества: первый уровень служит для установления качества для образцов с близкими к нормальным значениям показателями пациента (Erba Control N Plus, кат. № EHL00016), а второй — для образцов с патологическими значениями (Erba Control P Plus, кат. № EHL00017).

ОГРАНИЧЕНИЯ

Желтушные, гемолизированные или гиперлипемические образцы вызывают интерференцию при замерах поглощательной способности, что требует использования заготовок плазм для получения точных результатов. Заготовки плазмы также необходимы для пациентов с заторможенной контактной активацией фактора — таких как пациентов с ДВС-

синдромом — или для пациентов, принимающих оральные контрацептивы, в результате чего может произойти холодная активация.

Заготовки плазмы получают путем замены солевого раствора на активатор С-белка в реакции пробы. Вычитите показатель активности заготовки образца из показателя активности пробы.

В природе активатором С-белка является тромбин в присутствии тромбомодулина. Не исключается возможность существования клинических аномалий С-белка, не обнаруживаемых по реакции с активатором из змеиного яда или с хромогенным субстратом, используемых в этом наборе. Для обеспечения точных и воспроизводимых результатов используйте точные устройства для пипетирования и соблюдайте рекомендованные процедуры, обращая особое внимание на время и температуру инкубации.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

Гемоглобин: отрицательное смещение от 2 г/л в нормальной плазме (106,3%).

Общий билирубин: отрицательное смещение от 140 мг/л (239,4 мкМ/л) в нормальной плазме (102%).

Мутность: отрицательное смещение от 3 г/л (3,42 мМ/л) эквивалентных триглицеридов в нормальной плазме (106,3%).

ПОКАЗАТЕЛИ

Приведенные показатели были получены при помощи анализатора ECL. При использовании различных устройств или ручной методики результаты могут отличаться.

Предел обнаружения

Предел обнаружения для анализа Erba Chrom Protein C был определен при концентрации 5,3%.

Линейность

Анализ Erba Chrom Protein C дает значения линейной калибровки в диапазоне 14—110%.

Точность

	Внутрианалитическая точность (N = 20)		Межаналитическая точность (N = 20)	
Среднее, с	110,90	64,00	113,60	55,20
КВ, %	2,52	2,67	3,60	4,89