Erba Chrom Protein C

Protein C (Chromogenní stanovení)

Kat. č.	Název balení	Obsah balení
EHL00009	Erba Chrom Protein C	R1: 2 x 2 ml PC Substrate R2: 2 x 2 ml PC Activator R3: 1 x 5 ml PC Diluent

CZ

CE IVD

POUŽITÍ

Souprava Erba Chrom Protein C je určena ke kvantitativnímu stanovení proteinu C v lidské plazmě, jedná se o chromogenní stanovení.

KLINICKÝ VÝZNAM

Protein C je vitamin K dependentní protein, který hraje důležitou roli v regulaci antikoagulačního mechanismu. Může inhibovat koagulaci tím, že inaktivuje faktory Va[1] a VIIIa[2] nebo, pokud je aktivován může stimulovat fibrinolýzu.[3] Protein C cirkuluje jako zymogen a je konvertován na aktivní serinovou proteázu působením trombinu v přítomnosti trombomodulinu. Deficience proteinu C představuje rizikový faktor pro rozvoj žilní trombózy.

PRINCIP METODY

Protein C v plazmě je aktivován specifickou frakcí hadího jedu – *Agkistrodon contotrix*. Množství aktivovaného proteinu C je stanoveno monitorováním rychlosti hydrolýzy chromogenního substrátu specifického pro protein C. Množství uvolněného pNA je měřeno při 405 nm a je úměrné množství proteinu C.

SLOŽENÍ ČINIDEL

R1 – Protein C substrát: 2,75 µmol lyofilizovaného substrátu – pyro-Glu-Pro-Arg-pNa HCl
R2 – Protein C aktivátor: 0,8 jednotek aktivátoru z hadího jedu (Protac®)
R3 – Protein C diluent: TRIS pufr s azidem sodným jako konzervačním činidlem

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

- Pouze pro in vitro diagnostiku. S těmito činidly mohou pracovat pouze odborně způsobilí laboratorní pracovníci.
- Zabraňte požití.
- Pokud pracujete se soupravou, používejte ochranné rukavice.
- Abyste zabránili kontaminaci, používejte čisté nebo jednorázové laboratorní vybavení.
- Případné zbytky činidel je nutno likvidovat podle vlastních interních předpisů v souladu se Zákonem o odpadech.

Činidlo 1 není klasifikováno jako nebezpečné.
Činidlo 2: EUH 208 Obsahuje Protac®. Může vyvolat alergickou reakci.
EUH 210 Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list.
Činidlo 3 diluent obsahuje < 1 % imidazolu.

Nebezpečí

Standardní věty o nebezpečnosti:
H360D Může poškodit plod v těle matky.
EUH032 Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami.
Pokyny pro bezpečné zacházení:
P308+P313 PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

VAROVÁNÍ – BIOLOGICKÉ RIZIKO
Protein C aktivátor obsahuje hadí jed. Proto uživatelé reagencií tohoto typu musí být při práci s tímto biologickým materiálem mimořádně opatrní a pracovat zcela ve shodě s platnými bezpečnostními opatřeními jako by se jednalo o infekční materiál.

PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

R1 – substrát: rozpusťte obsah lahvičky ve 2 ml činidla R3 (diluent). Pokud je činidlo zakalené, zahřejte ho na několik minut na teplotu 37°C.
R2 – aktivátor: obsah lahvičky rozpusťte ve 2 ml destilované vody.
R3 – diluent: připraven k použití.
Zabraňte kontaminaci činidel.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Neotevřená činidla, skladovaná při 2–8°C, jsou stabilní do data exspirace uvedeného na štítku.
Po rekonstituci jsou činidla **R1 a R2** stabilní:
- 1 týden při 2–8°C
- 1 měsíc při -20°C.

POŽADOVANÉ REAGENCIE, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ SOUPRAVY

Erba Standard Plasma (kat. č.: EHL 00012)
NaCl roztok (0,9 %)

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Při práci používejte plast nebo silikonizované sklo.
Krev (9 objemových dílů) odeberte do 3,2 % nebo 3,8 % citrátu sodného (1 objemový díl), který působí jako antikoagulant. Centrifugujte 15 minut při 1 500 x g a odseparujte plazmu.
Plazmu skladujte při teplotě 2–8°C nebo 18–24°C. Stanovení by mělo být provedeno do 4 hodin od odběru vzorku. Plazma může být skladována při teplotě -20°C po dobu 2 týdnů nebo při teplotě -70°C po dobu 6 měsíců. Před stanovením plazmu rychle rozpusťte při 37°C. Při této teplotě ponechejte plazmu maximálně po dobu 5 minut.[4] Chybné výsledky mohou být způsobeny kontaminací tkáňovými tekutinami nebo stází. Zabraňte míchání, tvorbě bublin nebo napěnění. Účinky běžně používaných léků jsou uvedeny v literatuře – Young et al.[5]

POSTUP MĚŘENÍ

Manuální metoda

Kalibrace

Nová kalibrace by měla být provedena při každé změně šarže činidel. Ke kalibraci se doporučuje použít kalibrační plazmu Erba Standard Plasma (kat. č. EHL00012), která se ředí 0,9 % roztokem NaCl:

Standard %	Plazma	Pufr
100 %	100 µl Erba Standard Plasma	+ 300 µl 0,9 % NaCl
50 %	50 µl Erba Standard Plasma	+ 350 µl 0,9 % NaCl
0 %	—	400 µl 0,9 % NaCl
Pacient	100 µl plazma	+ 300 µl 0,9 % NaCl

Endpoint metoda

- Stanovení provádějte v duplikátu.
- Do kyvety – zkumavky napipetujte 100 µl standardu, pacientského vzorku nebo kontroly (ředěné – viz. ředící tabulka).
- Inkubujte 2 minuty při 37 °C.
- Přidejte 200 µl Protein C aktivátor a promíchejte.
- Inkubujte 5 minut při 37 °C.
- Přidejte 200 µl Protein C substrát a promíchejte.
- Inkubujte 10 minut při 37 °C.
- Přidejte 200 µl kyseliny octové a promíchejte.
- * Přidejte 200 µl vody.

Změřte absorbanci při 405 nm proti blanku připraveného s destilovanou vodou.
* některé spektrofotometry vyžadují minimální objem v kyvetě 1 ml.

Automatická metoda

Postupujte podle informací uvedených v Uživatelském manuálu.

REFERENČNÍ HODNOTY

Referenční hodnoty se mohou lišit v závislosti na použité technice a použitém systému. Proto je nutné, aby si každá laboratoř stanovila své vlastní normální rozmezí. Hodnoty Proteinu C jsou obvykle udány v relativních procentech v porovnání k normálnímu standardu směsné (pool) plazmy. Bertina et al[6] uvádějí rozmezí 65–145 % pro zdravé jedince, snížené hodnoty byly nalezeny po antikoagulační terapii. Zdá se, že u zdravých jedinců není rozdíl v hladině proteinu C u mužů a žen.

KONTROLA KVALITY

Každá laboratoř by si měla založit vlastní program kontroly kvality.
Pro zajištění odpovídající kvality stanovení je doporučeno použít kontrolní plazmu. Je doporučeno použít dvě hladiny kontrolní plazmy, jednu blízko normálních hodnot pacientů (Erba Control N Plus, kat. č. EHL00016) a v patologické oblasti (Erba Control P Plus, kat. č. EHL00017).

OMEZENÍ

Ikterické, lipemické a hemolytické vzorky interferují při odečtu absorbance, proto je požadováno měření blanku plazmy, aby výsledky byly přesné. Měření blanku plazmy je rovněž nutné v případech, kdy je v plazmě pacientů omezena aktivace faktoru – např. u pacientů s DIK nebo u jedinců s orální antikoncepcí, kde může dojít k aktivaci chladem. Blanky se měří tak, že se při měření vzorku nahradí Protein C aktivátor fyziologickým roztokem. Blank se pak odečte od hodnoty stanovovaného vzorku.
Přirozeně se vyskytujícím aktivátorem proteinu C je trombin v přítomnosti trombomodulinu. Není možné vyloučit výskyt určitých klinických abnormalit proteinu C, které nejsou detekovatelné aktivátorem z hadího jedu a substrátem použitým v této soupravě. Pro zajištění přesných a reprodukovatelných výsledků používejte kalibrované pipety a dodržujte doporučený postup se zvláštním důrazem na inkubační dobu a teplotu inkubace.

INTERFERENCES

Hemoglobin: negativní bias 2 g/l na normální hladině (106,3 %).
Celkový bilirubin: negativní bias 140 g/l na normální hladině (102 %).
Zákal: negativní bias 3 g/l (3,42 mmol/l) odpovídá triglyceridům na normální hladině (106,3 %).

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Tyto výkonnostní charakteristiky byly získány na analyzátoru ECL. Výsledky se mohou lišit v případě použití jiného přístroje nebo manuální metody stanovení.
Mez detekce: 5,3 %
Linearita: od 14 do 110 %

Přesnost

	Intra-assay (N = 20)		Inter-assay (N = 20)	
Střední hodnota (s)	110,9	64,0	113,6	55,2
CV (%)	2,52	2,67	3,60	4,89

LITERATURA

1. Walker FJ (1981) Regulation of activated protein C by protein S. The role of phospholipid in factor Va inactivation, J Biol Chem, 256: 11128-31
2. Taylor BF, Lockhart MS (1985) A new function for activated protein C:activated protein C prevents inhibition of plasminogen activators by releasete from mononuclear leukocytes-platelet suspensions stimulated by phorbol diester, Thromb Tes, 37(1): 155-64
3. Fulcher CA, Gardiner JE, Griffin JH, Zimmerman TS (1984) Proteolytic inactivation of human factor VIII procoagulant protein by activated protein C and its analogy with factor V, 63(2): 486-9
4. 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
5. Young DS et al. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed., AACC Press Washington, D.C.,1990
6. Bertina RM, Broekmans AW, Krommenhoek-Van Es C, Van Wijngaarden A (1984) The use of a functional and immunologic assay for plasma protein C in the study of the heterogeneity of congenital protein C deficiency, Thromb Haemostas, 51:1-5
7. Pabinger-Fasching I, Bertina RM, Lechner K, Niesser H, Korninger C (1983) Protein C deficiency in two Austrian families, Thromb haemostas, 50:810-3

POUŽITÉ SYMBOLY

LOT Číslo šarže
IVD In vitro Diagnostikum
Čtěte návod k použití
REF Katalogové číslo
Výrobce
CONT Obsah
Datum expirace
Teplota skladování

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 13485

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbamannheim.com

10020373
10020416
N/135/20/G/INT
Datum revize: 15. 5. 2020

Erba Chrom Protein C
Protein C (Chromogenic)

Cat. No.	Pack name	Packaging (Content)
EHL00009	Erba Chrom Protein C	R1: 2 x 2 ml PC Substrate R2: 2 x 2 ml PC Activator R3: 1 x 5 ml PC Diluent

EN

CE IVD

INTENDED USE
Erba Chrom Protein C assay is intended for the quantitative determination of protein C in human plasma using a chromogenic assay method.

CLINICAL SIGNIFICANCE
Protein C is a vitamin K dependent protein which plays an important role in the regulation of anticoagulant mechanisms. It can inhibit coagulation by inactivating factors Va[1] and VIIIa[2] or, when activated, can stimulate fibrinolysis.[3] Protein C circulates as a zymogen, and is converted to an active serine protease by the action of thrombin in the presence of thrombomodulin. Both hereditary and acquired Protein C deficiencies have been shown to be a risk factor for development of venous thrombosis.

PRINCIPLE
Protein C in plasma is activated by a specific fraction from the *Agkistrodon contortrix* snake venom. The amount of activated protein C (APC) is determined by monitoring the rate of hydrolysis of a protein C specific chromogenic substrate. The release of pNA is measured at 405 nm and is proportional to the protein C level.

COMPOSITION
R1 – Protein C substrate: 2,75 µmol lyophilised pyro-Glu-Pro-Arg-pNA.HCl.
R2 – Protein C activator: 0,8 units of activator from snake venom (Protac®).
R3 – Protein C diluent: tris buffer with sodium azide as a preservative.

WARNINGS AND PRECAUTIONS
- For in vitro diagnostic use only. These reagents are to be used by certified medical laboratory personnel only.
- Do not ingest.
- Wear gloves when handling all kit components.
- Only use clean or single use laboratory equipment to avoid contaminations.
- The eventual rest of reagents should be disposed of in accordance with the internal regulations and in compliance with local and national regulations relating to the safe handling of waste.

Reagent 1 are not classified as dangerous.
Reagent 2: EUH 208 Contains Protac®. May produce an allergic reaction.
EUH 210 Safety data sheet available on request.
Reagent 3 diluent contains < 1 % imidazole.

Danger

Hazard statements:
H360D May damage the unborn child.
EUH032 Contact with acids liberates very toxic gas.
Precautionary statements:
P308+P313 IF exposed or concerned: Get medical advice/attention.

WARNING – POTENTIAL BIOHAZARDOUS MATERIAL
The Protein C Activator reagent contains snake venom. Therefore, users of reagent of this type must exercise extreme care in full compliance with regulatory safety precautions in the manipulation of this biological material as if it was infectious.

WORKING REAGENT
R1 – Protein C substrate: reconstitute each vial with 2 ml of Protein C Diluent. If cloudy, warm at 37°C for a few minutes.
R2 – Protein C activator: reconstitute each vial with 2 ml deionised water.
R3 – Protein C diluents: ready for use.
Avoid reagents contamination.

STABILITY AND STORAGE
The unopened reagents are stable till the expiry date stated on the bottle and kit label when stored at 2–8°C.
Reconstituted reagents **R1, R2** are stable:
- 1 week at 2–8°C,
- 1 month at -20°C.

REAGENTS REQUIRED BUT NOT PROVIDE
Erba Standard Plasma (Cat. No.: EHL00012)
NaCl solution (0.9 %)

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION
Plastic or siliconised glass should be used throughout. Blood (9 parts) should be collected into 3.2 % or 3.8 % sodium citrate anticoagulant (1 part). Separate plasma after centrifugation at 1500 x g for 15 minutes. Plasma should be kept at 2–8°C or at 18–24°C. Testing should be completed within 4 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at -20°C for 2 weeks or -70°C for 6 months. Thaw quickly at 37°C prior to testing. Do not keep at 37°C more than 5 minutes.[4]
Erroneous results may be caused by contamination with tissue fluids or stasis. Avoid agitation, air bubbles or foaming. For the effects of commonly administered drugs, refer to Young, et al.[5]

PROCEDURE
Manual method
Calibration
Prepare plasma standards and patients plasma samples as follows: important: use only 0,9 % NaCl solutions for dilutions.

Standard %	Plasma	Buffer
100 %	100 µl Erba Standard Plasma	+ 300 µl saline
50 %	50 µl Erba Standard Plasma	+ 350 µl saline
0 %	—	400 µl saline only
Patient	100 µl plasma	+ 300 µl saline

End Point Method Assay
To a glass or plastic test tube:
- Add 100 µl standard or patients' plasma dilution.
- Incubate at 37°C for 2 minutes.
- Add 200 µl Protein C Activator and mix.
- Incubate at 37°C for 5 minutes.
- Add 200 µl Protein C Substrate and mix.
- Incubate at 37°C for 10 minutes
- Add 200 µl acetic acid and mix.
- * Add 200 µl water (optional).

* Some spectrophotometers require a minimum of 1 ml volume in the cuvette.
Read absorbance at 405 nm in a 1 cm semi-micro cuvette against a blank prepared with deionised water. As many as ten determinations can be performed simultaneously with the same stop watch by staggering pipetting steps at five sekond intervals.

Automated method
Refer to the instrument's operator's manual.

REFERENCES VALUES
Reference values can vary between laboratories depending on the techniques and systems in use. For this reason each laboratory should establish its own normal range. Protein C values are usually expressed in relative percentage compared to a pooled normal plasma standard. Bertina et al[6] reported a range of 65–145 % in healthy individuals, with diminished levels found following anticoagulant therapy. There is apparently no difference in protein C between healthy males or females.

QUALITY CONTROL
Each laboratory should establish a quality control program.
Normal and abnormal control plasmas should be tested prior to each batch of patient samples, to ensure satisfactory instrument and operator performance. If controls do not perform as expected, patient results should be considered invalid.
It is suggested to use two levels of control, one close to the normal patient values (Erba Control N Plus, Cat. No.: EHL00016) and the second representative the pathologic values (Erba Control P Plus, Cat. No.: EHL00017).

LIMITATIONS
Icteric, haemolysed or hyperlipemic specimens interfere with absorbance readings, thus requiring the use of plasma blanks for accurate results. Plasma blanks are also needed on patients when contact factor activation is suspended, such as DIC patients, or from individuals on oral contraceptives where cold activation may occur. Blanks are obtained by substituting saline for the Protein C Activator in the test reaction. Subtract the sample blank from the sample test activity.
The naturally-occurring activator of protein C is thrombin in the presence of thrombomodulin. The possible existence of clinical protein C abnormalities not detectable by reactivity with the snake venom activator or with the chromogenic substrate used in this kit should be not precluded. To assure accurate, reproductible results, use accurate pipetting devices and observe recommended procedures with particular emphasis on incubation times and incubation temperature.

INTERFERENCES
Haemoglobin: Negative bias from 2 g/l on normal plasma (106.3 %).
Total bilirubin: Negative bias from 140 mg/l (239.4 µmol/l) on normal plasma (102 %).
Turbidity: Negative bias from 3 g/l (3.42 mmol/l) equivalent triglycerides on normal plasma (106.3 %).

PERFORMANCES
These performances have been obtained using an analyzer ECL. Results may vary if a different instrument or manual procedure is used.

Limit of Detection
The limit of detection for the Erba Chrom Protein C assay was determined at a concentration of 5.3 %.

Linearity
The Erba Chrom Protein C assay is designed to give a linear calibration in the range of 14–110 %.

Precision:

	Intra-assay precision (N = 20)		Inter-assay precision (N = 20)	
Mean (s)	110.9	64.0	113.6	55.2
CV (%)	2.52	2.67	3.60	4.89

REFERENCES

1. Walker FJ (1981) Regulation of activated protein C by protein S. The role of phospholipid in factor Va inactivation, J Biol Chem, 256: 11128-31
2. Taylor BF, Lockhart MS (1985) A new function for activated protein C:activated protein C prevents inhibition of plasminogen activators by releasete from mononuclear leukocytes-platelet suspensions stimulated by phorbol diester, Thromb Tes, 37(1): 155-64
3. Fulcher CA, Gardiner JE, Griffin JH, Zimmerman TS (1984) Proteolytic inactivation of human factor VIII procoagulant protein by activated protein C and its analogy with factor V, 63(2): 486-9
4. 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
5. Young DS et al. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed., AACC Press Washington, D.C.,1990
6. Bertina RM, Broekmans AW, Krommenhoek-Van Es C, Van Wijngaarden A (1984) The use of a functional and immunologic assay for plasma protein C in the study of the heterogeneity of congenital protein C deficiency, Thromb Haemostas, 51:1-5
7. Pabinger-Fasching I, Bertina RM, Lechner K, Niesser H, Korninger C (1983) Protein C deficiency in two Austrian families, Thromb haemostas, 50:810-3

USED SYMBOLS

LOT Lot Number
IVD In vitro Diagnostics
See Instruction for Use
REF Catalogue Number
Manufacturer
CONT Content
Expiry Date
Storage Temperature

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 13485

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbamannheim.com

10020373
10020416
N/135/20/G/INT
Date of revision: 15. 5. 2020

Erba Chrom Protein C
Набір С-білок Protein C

Кат. номер	Назва на упаковці	Вміст
EHL00009	Набір С-білок Protein C	Реагент 1: 2 x 2 мл Субстрат С-білку Реагент 2: 2 x 2 мл Активатор С-білку Реагент 3: 1 x 5 мл Розчинник С-білку

UA CE IVD

ЗАСТОСУВАННЯ
Набір реагентів **Erba Chrom Protein C** призначений для кількісного визначення вмісту С-білку у плазмі крові людини методом хромогенного аналізу.

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ
С-білок відіграє важливу роль у регуляції механізмів затримки згортання крові і залежить від наявності вітаміну К. С-білок має здатність інгібувати коагуляцію шляхом деактивації факторів Va [1] і VIIIa [2], або ж стимулювати фібриноліз при його активації.[3]
С-білок циркулює як профермент і під дією тромбіну в присутності тромбомодуліну перетворюється в активну серинову протеазу. Встановлено, що як спадковий, так і набутий дефіцит С-білку, є факторами ризику розвитку венозного тромбозу.

ПРИНЦИП РЕАКЦІЇ
С-білок в плазмі крові активується спеціальною фракцією, отриманою з отрути змій виду *Agkistrodon contortrix*. Кількість активованого С-білку встановлюється за швидкістю гідролізу специфічного хромогенного субстрату С-білку. Вироблення n-нітроаніліну в ході даного процесу є прямо пропорційним вмісту С-білку і вимірюється фотометрично на 405 нм.

СКЛАД РЕАГЕНТІВ
Реагент 1 – Субстрат С-білку: 2,75 мкмоль ліофілізованого субстрату pyro-Glu-Pro-Arg-pNA-HCl.
Реагент 2 – Активатор С-білку: 0,8 од. активатора із змійної отрути (Protac®).
Реагент 3 – Розчинник С-білку: буфер тріс з натрію азидом в якості консерванту.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ
- Лише для *in vitro* діагностики професійно підготовленим персоналом медичної лабораторії.
- Уникати ковтання.
- Користуватися захисними рукавичками при поводженні з усіма компонентами набору.
- Запобігати контамінації, використовувати лише чисті або одноразові лабораторні приналежності.
- Залишки реагентів повинні утилізуватися у відповідності до діючих локальних або національних правил для даних видів матеріалів.

Реагент 1 не класифікується як небезпечний.
Реагент 2: EUH 208 Містить Protac®. Може викликати алергічну реакцію.
EUH 210 Інформаційний матеріал з безпеки (SDS) надається за запитом.
Реагент 3 Розчинник містить <1% імідазолу.

Небезпека

Види небезпечного впливу:
H360D Може зашкодити ненародженій дитині.
EUH032 При взаємодії з кислотами виділяється дуже токсичний газ.
Заходи безпеки:
P308+P313 У разі негативних наслідків: звернутися за медичною допомогою до лікаря.

УВАГА! ПОТЕНЦІЙНО БІОЛОГІЧНО НЕБЕЗПЕЧНИЙ МАТЕРІАЛ
Активатор С-білку містить змійну отруту. При поводженні з даним набором необхідно суворо дотримуватися заходів безпеки під час роботи з біологічними матеріалами, які є потенційно інфекційними і небезпечними.

ПІДГОТОВКА РОБОЧИХ РЕАГЕНТІВ
Реагент 1 – Субстрат С-білку: відновити вміст кожного флакону за допомогою 2 мл Реагенту 3 (Розчинник С-білку). Якщо суміш є мутною, утримати за температури 37 °C упродовж декількох хвилин.
Реагент 2 – Активатор С-білку: відновити вміст кожного флакону за допомогою 2 мл деіонізованої води.
Реагент 3 – Розчинник С-білку: готовий до використання.
Уникати контамінації реагентів.

ЗБЕРІГАННЯ І СТАБІЛЬНІСТЬ
Невідкриті реагенти є стабільними до вичерпання вказаного на упаковці терміну придатності за умови зберігання за температури 2–8 °C.
Відновлені Реагент 1 і Реагент 2 є стабільними упродовж:
- 1 тижня за температури 2–8 °C,
- 1 місяця за температури -20 °C.

НЕОБХІДНІ ДОДАТКОВІ МАТЕРІАЛИ
Стандартна плазма (кат. номер EHL00012)
Розчин натрію хлориду (0,9 %)

ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ
Використовувати посуд з органічного або силіконізованого скла. Кров (9 частин) необхідно відібрати в антикоагулянт: 3,2% або 3,8% натрію цитрат (1 частина). Відділити плазму крові центрифугуванням на 1500 x g упродовж 15 хвилин. Плазму зберігати за температури 2–8 °C або 18–24 °C, аналіз провести упродовж 4 годин з моменту відбору. Для більш тривалого зберігання плазму необхідно заморозити, тривалість зберігання у замороженому вигляді: 2 тижні за температури -20 °C або 6 місяців за температури -70 °C. Безпосередньо перед початком аналізу розморозити за температури 37 °C. Не утримувати за температури 37 °C понад 5 хвилин. [4] Забруднення зразка тканевими рідинами або стазом може призвести до спотворення результатів аналізу. Не збовтувати, уникати появи піни і утворення пухирців. Для отримання інформації стосовно впливу найчастіше призначуваних лікарських засобів на результати слід звернутися до роботи Янга та ін.[5]

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ
Ручний метод
Калібрування
Підготувати стандарти плазми і зразки плазми пацієнтів, як показано в таблиці. Важливо: для розведень використовувати лише 0,9 % розчин натрію хлориду.

Стандарт %	Плазма	Буфер
100 %	100 мкл Стандартна плазма	+ 300 мкл розчину NaCl
50 %	50 мкл Стандартна плазма	+ 350 мкл розчину NaCl
0 %	—	400 мкл розчину NaCl
Зразок пацієнта	100 мкл плазми	+ 300 мкл розчину NaCl

Метод кінцевої точки
В скляну або пластикову реакційну пробірку:
- Додати 100 мкл розчину стандартної плазми або розчину зразка пацієнта.
- Інкубувати за температури 37 °C упродовж 2 хвилин.
- Додати 200 мкл Реагенту 2 (Активатор С-білку) і перемішати.
- Інкубувати за температури 37 °C упродовж 5 хвилин.
- Додати 200 мкл Реагенту 1 (Субстрат С-білку) і перемішати.
- Інкубувати за температури 37 °C упродовж 10 хвилин.
- Додати 200 мкл оцтової кислоти і перемішати.
- Додати 200 мкл води (за необхідності) *

* Some spectrophotometers require a minimum of 1 ml volume in the cuvette.
Примітка * Деякі спектрофотометри потребують об'єм щонайменше 1 мл у вимірювальній кюветі.
Виміряти поглинання на 405 нм у 1-сантиметровій напівмікрокюветі у порівнянні з бланком, підготовленим з деіонізованою водою. Можуть бути виконані до десяти вимірювань одночасно за один запуск секундоміру шляхом виконання етапів піпетування з інтервалом 5 секунд.

Автоматичний метод
Див. Інструкцію користувача обладнання.

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ
Нормальні величини вмісту С-білку можуть коливатися у залежності від реагентів і методів його визначення. З огляду на це, кожна лабораторія самостійно встановлює діапазони нормальних значень. Значення вмісту С-білку зазвичай вказуються у процентному співвідношенні відносно нормального рівня у концентрованій плазмі. Бертіна та ін. [6] показують діапазон нормальних значень у здорових людей в межах 65–145 %, із зниженням рівня під час антикоагулянтної терапії. Відмінності вмісту С-білку у чоловіків і жінок не спостерігається.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ
Кожна лабораторія встановлює власні процедури контролю якості. Задля забезпечення якості і ефективності роботи перед кожною серією аналізів слід проаналізувати нормальні та патологічні контрольні матеріали. Якщо контролі не показали очікуваних результатів, то результати, отримані для зразків пацієнтів повинні визнаватися недостовірними (недійсними).
Рекомендованим є використання контрольних плазм крові з двома рівнями контролю, один з яких для нормальних (близьких до нормальних) значень: Контрольна плазма нормальна Плюс, кат. номер EHL00016, другий - для патологічних значень: Контрольна плазма патологія Плюс, кат. номер EHL00017.

ОБМЕЖЕННЯ ЗАСТОСУВАННЯ
Гемолізовані і гіперліпемічні зразки, а також зразки з вираженими ознаками жовтяниці спотворюють вимірювання поглинання, тому для отримання точних результатів у таких випадках необхідне використання бланку зразка. Також його використання є необхідним за наявності відкладеної контактної активації фактору, зокрема для пацієнтів з ДВС-синдромом, а також для пацієнтів, які вживають оральні контрацептиви (спричиняють холодну активацію). Бланк зразка готується описаним для зразка пацієнта способом, однак із заміною розчину солі на Реагент 1 (Активатор С-білку). Після вимірювання бланку зразка необхідно відняти отримане значення від значення зразка пацієнта.
Природним активатором С-білку є тромбін у присутності тромбомодуліну. Не виключається можливість існування клінічних аномалій С-білку, що не будуть виявлятися за реакціями з реагентами даного набору (активатор і субстрат). Для отримання точних і відтворюваних результатів слід використовувати точні дозувальні пристрої і дотримуватися рекомендованих процедур із приділенням особливої уваги температурі і тривалості інкубацій.

ФАКТОРИ ВПЛИВУ
Гемоглобін: Від'ємне зміщення, починаючи з концентрації 2 г/л у нормальній плазмі (106,3 %).
Загальний білірубін: Від'ємне зміщення, починаючи з концентрації 140 мг/л (239,4 мкмоль/л) у нормальній плазмі (102 %).
Мутність: Від'ємне зміщення, починаючи з концентрації 3 г/л (3,42 ммоль/л) еквівалентних тригліцеридів у нормальній плазмі (106,3 %).

ПАРАМЕТРИ РЕАГЕНТІВ
Наведені значення отримувалися на аналізаторах Erba серії ECL і можуть відрізнятися від отриманих ручним методом або на інших аналізаторах.

Нижня межа визначення
Нижня межа визначення для набору С-білок Protein C визначена на рівні 5,3 %.

Лінійність
Набір реагентів С-білок Protein C проявляє лінійність калібрувальних графіків у діапазоні значень 14-110%.

Точність:

	Внутрішньосерійна (N = 20)		Міжсерійна (N = 20)	
Значення (с)	110.9	64.0	113.6	55.2
СКВ (%)	2.52	2.67	3.60	4.89

ЛІТЕРАТУРА

1. Walker FJ (1981) Regulation of activated protein C by protein S. The role of phospholipid in factor Va inactivation, J Biol Chem, 256: 11128-31
2. Taylor BF, Lockhart MS (1985) A new function for activated protein C:activated protein C prevents inhibition of plasminogen activators by releaseate from mononuclear leukocytes-platelet suspensions stimulated by phorbol diester, Thromb Tes, 37(1): 155-64
3. Fulcher CA, Gardiner JE, Griffin JH, Zimmerman TS (1984) Proteolytic inactivation of human factor VIII procoagulant protein by activated protein C and its analogy with factor V, 63(2): 486-9
4. 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
5. Young DS et al. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed., AACC Press Washington, D.C.,1990
6. Bertina RM, Broekmans AW, Krommenhoek-Van Es C, Van Wijngaarden A (1984) The use of a functional and immunologic assay for plasma protein C in the study of the heterogeneity of congenital protein C deficiency, Thromb Haemostas, 51:1-5
7. Pabinger-Fasching I, Bertina RM, Lechner K, Niesser H, Korninger C (1983) Protein C deficiency in two Austrian families, Thromb haemostas, 50:810-3

UA Уповноважений представник в Україні:
ТОВ „ЕРБА ДІАГНОСТИКС УКРАЇНА“
01042, Київ, вул. ІОННА ПАВЛА II, буд. 21, офіс 401
тел. +38-050-4483456
ukraine@erbamannheim.com

ВИКОРИСТАНІ ПОЗНАЧКИ

LOT Номер партії	IVD In vitro діагностика	Перед використанням уважно вивчіть Інструкцію
REF Каталожний номер	Виробник	CONT Вміст
Термін придатності	Температура зберігання	Національний знак відповідності для України

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 13485

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbamannheim.com

10020373
10020416
N/135/20/G/INT
Дата проведення контролю: 15. 5. 2020