SIEMENS

Protein S Ac

В строке редакции указывается обновление до предыдущей версии.

Назначение

Для определения функциональной активности протеина S в плазме крови человека.

Резюме и разъяснение

Протеин S, витамин K-зависимый белок плазмы крови — кофермент активированного протеина C (протеин Ca). Он стимулирует протеолитическую инактивацию фактора Va и фактора VIIIa белком Ca, таким образом стимулируя их ингибирующее действие на свертывание[1,2]. Протеин S встречается в плазме и как свободный, физиологически коагуляционно активный белок, а также в неактивной форме, связанный со связывающим белком C4b (C4bBP). Сниженная активность протеина S увеличивает риск тромбоэмболии. Гомозиготный дефицит протеина S, как и гомозиготный дефицит белка C, приводит к появлению молниеносной пурпуры у новорожденных.

Причинами уменьшения активности протеина S являются[2,3]:

- наследственный дефицит протеина S;
- нарушение работы печени;
- пероральный прием антикоагулянтов;
- лечение L-аспарагиназой;
- беременность;
- оральные контрацептивы;
- терапия эстрогеном;
- повышенное содержание в плазме протеина C4bBP при реакции острой фазы.

Относительная активность протеина S может зависеть от используемого метода испытания[4].

Иммунохимические методы рекомендованы для определения свободного и связанного белка при необходимости выяснения наличия врожденного или приобретенного заболевания, вызывающего дефицит белка, или если не определен уровень снижения активности протеина S, вызванный повышением уровня C4bBP.

Принципы выполнения процедуры

Протеин Ca протеолитически расщепляет ФVa, который образуется в ходе активации каскада свертывания крови способом RVV (яд гадюки Расселла). В этой реакции протеин S действует как кофактор, что ускоряет реакцию. В результате время свертывания крови возрастает пропорционально активности протеина S в образце. Добавление дефицитной плазмы гарантирует, что в испытуемой смеси будет достаточное количество фибриногена, фактора V и других необходимых факторов свертывания крови.

Коагуляция вызывается определенным уровнем фактора X в FX-активаторе препарата RVV. FXa приводит к превращению протромбина в тромбин под действием остаточного фактора Va. Полученный тромбин затем превращает фибриноген в фибрин.

Время свертывания крови можно определить механически, оптически или другими способами.

Реагенты

Примечание: Протеин S Ак можно использовать в автоматизированных анализаторах гемостаза. предоставляет справочные руководства (краткие инструкции) для ряда анализаторов гемостаза. Справочные руководства (краткие инструкции) содержат информацию по работе с анализатором и проведению анализа, которая может отличаться от информации, приведенной в настоящей инструкции по применению. В подобном случае информация, приведенная в справочных руководствах (кратких инструкциях), имеет приоритет перед настоящей инструкцией по применению. Также ознакомьтесь с руководством по эксплуатации, предоставленным производителем анализатора.

Поставляемые материалы

Протеин S Ак, REF *OPAP*

6 x → 1 мл Протеин S Ак DEFICIENT, дефицитная плазма

2 x → 2 мл Протеин S Ак REAGENT, реагент APC

2 x → 5 мл Протеин S Ак ACTIVATOR, начальный реагент

Состав

Плазма с дефицитом протеина S Ак: лиофилизированная цитратная плазма крови человека с неизмеряемой остаточной активностью протеина S. Скорее всего, в плазме отсутствует C4bBP.

Реагент протеина S Ак для APC, лиофилизированный: очищенный, активированный человеческий протеин C, содержащий хлорида кальция.

Консерванты: 5-хлор-2-метил-изотиазол-3-он (3,8 мг/л)
2 метил-изотиазол-3-он (1,3 мг/л)

Активирующий протеин S Ак реагент, лиофилизированный; активатор, полученный из яда гадюки Расселла (Vipera russelli), с добавлением фосфолипидов.

Консервант: Азид натрия (0,5 г/л)

Предупреждения и меры предосторожности

Для диагностики *in vitro*.

Содержит азид натрия (<1 г/л) в качестве консерванта. Азид натрия может вступать в реакцию с медными или свинцовыми трубками дренажных систем, образуя взрывчатые химические соединения. Утилизируйте изделие надлежащим образом согласно местным нормативным актам.

ВНИМАНИЕ! ВОЗМОЖНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОПАСНОСТЬ
Каждый донор или проба от донора были проверены и дали отрицательные результаты на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) 1 и 2, вирусы гепатита B (HBV) и гепатита C (HCV) при исследовании методами, соответствующими директивам по диагностике *in vitro* Евросоюза или утвержденными FDA. Поскольку ни один известный метод анализа не может полностью гарантировать отсутствие возбудителей инфекции, обращаться с любыми продуктами человеческого происхождения следует с осторожностью.

Подготовка реагентов

Протеин S Ак DEFICIENT: Растворите в указанном количестве дистиллированной воды и инкубируйте при температуре 15 до 25 °C в течение 60 мин.

Белок APC Ак REAGENT**:** Растворите в указанном количестве дистиллированной воды и инкубируйте при температуре 15 до 25 °C в течение 60 мин.

Протеин S Ак ACTIVATOR**:** Растворите в указанном количестве дистиллированной воды и инкубируйте при температуре 37 °C в течение 60 мин. на водяной бане и аккуратно перемешайте перед использованием.

Хранение и стабильность

Тестовый набор необходимо хранить в неоткрытом виде при температуре 2 до 8 °C и использовать до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Стабильность после восстановления (закрытые флаконы):

Температура	Протеин S Ак DEFICIENT	Протеин S Ак REAGENT	Протеин S Ак ACTIVATOR
37 °C	-	-	4 ч.
15–25 °C	8 ч.	8 ч.	8 ч.
2–8 °C	-	2 дн.	2 дн.
≤ –18 °C	2 мес.	2 мес.	2 мес.

Информация по стабильности после загрузки в инструмент указана в справочных руководствах (кратких инструкциях) по каждому отдельному анализатору.

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Эталон плазмы Standard Human Plasma, REF ORKL

Плазма контрольная нормальная(N), REF ORKE

Плазма контрольная патологическая (P), REF OUPZ

Анализатор гемостаза

Забор образца и обращение с ним

Для получения плазмы осторожно смешайте 1 часть раствора цитрата натрия 0,11 моль/л (3,2 %) с 9 частями венозной крови, не допуская образования пены. Центрифугируйте немедленно с ускорением не менее 1500 × g в течение по меньшей мере 10 мин. **Извлекайте плазму осторожно, следите, чтобы в нее не попали тромбоциты.** Если образец будет заморожен, повторно центрифугируйте и **быстро** заморозьте собранную плазму в хорошо закрытом пластиковом контейнере.

Стабильность образцов:

≤ –18 °C	1 мес.
15 до 25 °C	4 ч.

Плазма, которая хранится при температуре ≤ –18 °C, должна быть разморожена в течение 10 мин. при 37 °C, после чего анализ должен быть выполнен в течение 4 ч.

Процедура

Внутренний контроль качества

Нормальный диапазон:	Плазма контрольная, нормальная (N)
Патологический диапазон:	Плазма контрольная, патологическая (P)

Материал контроля качества двух уровней (нормальный и патологический диапазон) необходимо анализировать в начале серии тестов, при каждой калибровке, при смене флаконов с реагентами и как минимум каждые восемь часов каждый день, когда выполняются анализы. Контрольные препараты следует обрабатывать точно так же, как образцы. В каждой лаборатории должен быть принят свой собственный диапазон контроля качества либо на основе целевых значений и диапазонов, предлагаемых производителем контрольных материалов, либо на основе доверительного интервала, установленного в лаборатории. Если контрольные значения выходят за пределы такого предварительно заданного диапазона, нужно проверить реагенты, калибровочную кривую и анализатор гемостаза. Не создавайте отчет с результатами анализа пациента, пока причина отклонения значений не выяснена и не устранена.

Результаты

Результаты получены с использованием референсной кривой, предварительно созданной методом серийных разведений стандартного раствора человеческой плазмы плазмой с дефицитом протеина S. После определения референсной кривой следует немедленно провести анализ образцов. Необходимо принять меры и удостовериться в том, что условия определения референсных кривых и выполнения последующих измерений (например, температуры реагентов) одинаковы.

Ограничения

Прецизионность анализа в значительной степени зависит от точности пипетирования, особенно при небольшом объеме образца.

У глубокозамороженных образцов может быть снижена степень восстановления протеина S в случае, если тромбоциты и лейкоциты не были тщательно отделены при удалении плазмы. Перед заморозкой образцов x следует повторно центрифугировать.

Наличие мутации фактора V на сайте расщепления протеина Ca может привести к снижению восстановления протеина S[5].

Антифосфолипидные антитела (например, волчаночный антикоагулянт) могут привести к повышению[6] или снижению[7] активности протеина S по результатам анализов.

Активность гепарина до 3 Е/мл (НФГ и НМГ) не влияет на результаты анализа.

Активность фактора VIII до 400 % не оказывает влияния.

Для оптимизации характеристик продукта и удовлетворения заявленных спецификаций компания Siemens провела валидацию этих реагентов в различных анализаторах. Выполненные пользователем модификации не поддерживаются компанией Siemens, поскольку они могут негативно сказаться на работе системы и результатах анализа. Внося изменения в инструкции или используя эти реагенты в других анализаторах, не упомянутых в кратких инструкциях или Siemens данной инструкции по применению, пользователь сам несет ответственность за их применимость.

Результаты этого анализа всегда следует интерпретировать, принимая во внимание анамнез пациента, клиническую картину и другие объективные данные.

Стандартные интервалы

В исследовании образцов предположительно здоровых испытуемых (n = 218) с использованием системы CA-1500 SYSMEX были получены следующие данные (5 — 95 Процентиля):

60 % - > 130 %, Медиана: 95 % (мужчины 75 % - > 130 %, Медиана: 104 %; женщины, которые не используют оральные контрацептивы: 59 % - 118 %, Медиана: 90 %; женщины, которые используют оральные контрацептивы: 52 % - 118 %, Медиана: 81 %).

Контрольные значения различаются в разных лабораториях в зависимости от используемых методов, таким образом, каждая лаборатория должна определить свои собственные референтные интервалы (для получения дополнительной информации о создании референтных интервалов см. документ CLSI C28-A «Как определить и установить референтные интервалы в клинических лабораториях»).

Рабочие характеристики

Диапазон измерения

Диапазон измерения системы CA-1500 SYSMEX составляет от 10 до 130 % от нормы.

Специфичность

Выявленный анализом функционально активный протеин S.

Точность

Для нормальных образцов плазмы, проанализированных на системе CA-1500 SYSMEX, полученные коэффициенты вариации находились в диапазоне между 3,6 % и 5,1 % в

серии измерений, и между 2,0 % и 4,1 % в разные дни измерений. Общая прецизионность находилась в диапазоне от 4,6 до 5,5 %.

Для патологически дефицитных образцов плазмы, проанализированных на системе CA-1500 SYSMEX, коэффициенты вариации находились в диапазоне между 4,7 % и 9,2 % в серии измерений, и между 1,9 % и 7,7 % в разные дни измерений. Общая прецизионность находилась в диапазоне от 4,8 % до 11,6 %.

Сравнение методов

Анализ протеина S Ак сравнивали с анализом коммерчески доступного протеина S методом оценки 239 образцы плазмы.

Полученный коэффициент корреляции составлял r = 0,92, с отсекаемым по оси y значением 1,53 % нормы и наклоном 0,96.

Значения, приведенные как отдельные рабочие характеристики анализа, представляют собой типичные результаты. Их не следует считать спецификациями для анализа протеина S Ак.

Источники

1. Dahlbäck B. Factor V and protein S as cofactors to activated protein C. Haematologica. 1997; 82: 91-5.
2. Borgel D, Gandrille S, Aiach M. Protein S deficiency. Thromb Haemost. 1997; 78: 351-6.
3. Kemkes-Matthes B. Acquired protein S deficiency. Clin Investig. 1992; 70: 529-34.
4. Boyer-Neumann C, Bertina RM, Tripodi A, et al. Comparison of functional assays for protein S: European collaborative study of patients with congenital and acquired deficiency. Thromb Haemost. 1993; 70: 946-50.
5. Faioni EM, Boyer-Neumann C, Franchi F, et al. Another protein S functional assay is sensitive to resistance to activated protein C. Thromb Haemost. 1994; 72: 648.
6. Lawrie AS, Lloyd ME, Mohamed F, et al. Assay of protein S in systemic lupus erythematosus. Blood Coagul Fibrinolysis. 1995; 6: 322-4.
7. Rossi E, Gatti L, Guarneri D, et al. Functional protein S in women with lupus anticoagulant inhibitor. Thromb Res. 1992; 65: 253-62.

Определение символов

	Не использовать повторно	YYYY-MM-DD	Срок годности
LOT	Номер партии	REF	Каталожный номер
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам		Производитель
EC REP	Уполномоченный представитель в Европе	Σ	Содержит достаточное количество реагентов для анализов
	Биологическая опасность	IVD	Медицинское устройство для диагностики *In Vitro*
	Температурные ограничения		См. инструкцию по пользованию
NON STERILE	Нестерильно	CE	Символ CE
CONTENTS	Содержание	→	Объем восстановленного раствора
LEVEL	Уровень		Беречь от солнечных лучей

SYSMEX является товарным знаком компании SYSMEX CORPORATION.

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.

Все права защищены.

Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
35041 Marburg/Germany

Siemens Healthcare Headquarters
Siemens Healthcare GmbH
Henkestraße 127
91052 Erlangen/Германия
Phone: +49 9131 84-0
siemens.com/healthcare