

# ПРОТЕЇН S Dia-PROTEIN S

## Dia-PROTEIN S

Каталог. №: 07204

Дата випуску інструкції: 21-11-2018  
Версія: 3



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

Кат. №: 07204 Білок S Dia-Protein S 4 x 1мл

### 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<sup>1,2</sup> білка С. Ця антикоагулянтна система є одним з основних регуляторів гемостазу, гальмуючи утворення згустків та сприяючи фібринолізу. Протеїн S 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 комплементу. 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, продовження 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

Потенційно небезпечний матеріал - **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 імуновиснажені плазми є негативними для ВГС.

### ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ

Зверніться до паспорту безпеки хімічної продукції щодо 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, не збовтуйте.
Плазма дефіцитного білка S	4 x 1 мл	Імунно виснажена плазма людини дефіцитного білка S.	Розведіть в 1 мл очищеної води. Залишіть на 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. Залишіть на 20 хвилин і добре перемішайте перед використанням, не збовтуйте.
Розріджувач для субстрату	2 x 2 мл	Елагідна кислота, фосфоліпіди, буфери, стабілізатори та консерванти (включаючи фенолу). 0,2%	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.

### НЕОБХІДНІ 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. <b>НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!</b>
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 S	Відновлені флакони стабільні до 8 годин при +2 - +8 ° C і 3,5 години при кімнатній температурі. <b>НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!</b>
Розріджувач субстрату	Відкритий флакон повинен бути стабільним до вказаного терміну придатності. <b>НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!</b>
Розчин хлориду кальцію 0,025M	Відкритий флакон повинен бути стабільним до вказаного терміну придатності. <b>НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!</b>
Фізіологічний розчин: 0,9%	Відкритий флакон повинен бути стабільним до вказаного терміну придатності. <b>НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!</b>

### 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  $-20^{\circ}\text{C}$  упродовж 2 тижнів або  $-70^{\circ}\text{C}$  упродовж 6 місяців. Перед тестуванням швидко розморозуйте 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

1. Розведіть необхідні флакони реагенту. Помістіть розчин хлориду кальцію Dia-CaCl<sub>2</sub> в інкубатор з температурою  $+ 37^{\circ}\text{C}$ .
2. Підготуйте запасний стандарт, змішуючи 200 мкл нормальної плазми з 1800 мкл сольового розчину.
3. 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

4. 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.
5. До коагуляційної кювети додайте 30 мкл плазми дефіцитного білка S.
6. Додайте 30 мкл стандарту, контролю або розведення пацієнта.
7. Додайте 30 мкл реагенту Активатора білка S.
8. Додайте 30 мкл субстратного реагенту білка S.
9. Інкубуйте впродовж 4 хвилин при  $+37^{\circ}\text{C}$ .
10. Додайте 30 мкл розчину хлориду кальцію та увімкніть таймер.
11. Зазначте час згортання до найближчих 0,1 секунди.
12. Позначте активність протеїну S (вісь X) та час згортання крові (вісь Y) на лінійному графічному папері.
13. Інтерполуйте пацієнта та контрольні значення з прямої лінії калібрування.

#### В. Автоматизований метод

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

#### ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Дефіцит білка S, вроджений або набутий, може призвести до серйозних тромбоемболічних 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

1.  $> 150\%$  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.

2. 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.
3. LA / APA. Позитивні зразки з вовчаковими антитілами з тривалим часом aPTT можуть давати неправильні значення білка S і повинні бути підтверджені аналізом вільного антигену.
4. 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.
5. 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 патологічний 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

#### РЕФЕРЕНСНІ 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.

#### ВІДТВОРЮВАНІСТЬ

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

#### ПОСИЛАННЯ

1. DiScipio RG, Davie, EW (1979) Characterisation of Protein S; a gamma-carboxyglutamic acid containing protein from bovine and human plasma, Biochemistry, 18:899-904
2. Dahlback B (1984) Purification of human vitamin K-dependent Protein S and its limited proteolysis by thrombin, Biochem J, 209:837-846
3. Walker FJ (1984) Protein S and the Regulation of Activated Protein C, Semin. Thromb. Hemost, 10:131-138
4. 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.

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



**ВИРОБНИК**

ДІАГОН ЛТД.  
вул. Барош, 48-52,  
H-1097 Будапешт, Угорщина  
Тел.: +36 1 3696500  
Факс: +36 1 3696301  
Web: [www.digon.com](http://www.digon.com)  
e-mail: [diagon@diagon.com](mailto:diagon@diagon.com)



**УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК**

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
вул. Симона Петлюри, 25  
м. Івано-Франківськ, 76014  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

