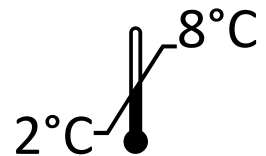


ACTICLOT[®] C

REF ACC-45



Obelis s.a
Bd. Général Wahis 53, 1030 Brussels, BELGIA

PRZEZNACZENIE

Test ACTICLOT® C jest przeznaczony do pomiaru aktywności białka C w osoczu ludzkim za pomocą testu krzepnięcia w punkcie końcowym. Test jest przeznaczony do diagnostyki *in vitro*.

WYJAŚNIENIE TESTU

Białko C to zależne od witaminy K białko przeciwkrzepliwe, które normalnie krąży w formie nieaktywnego zymogenu. Po aktywacji białko C dezaktywuje czynniki V i VIII, wydłużając tym samym czas krzepnięcia. Choć białko C może być aktywowane przez trombinę, tempo aktywacji *in vitro* jest bardzo małe. W takich warunkach białko inhibitora białka C dezaktywuje białko C równie szybko, jak jest aktywowane.

ZASADA METODY

Jad węża mokasy na miedziogłowca *Agkistrodon contortrix* zawiera szybki aktywator białka C¹. W teście ACTICLOT C, odczynnik aktywujący, utworzony z aktywatora białka C wyizolowanego z tego jadu, przekształca ludzkie białko C w jego aktywną proteazę w ciągu 5 minut². Odczynnik aktywujący jest również przeznaczony do aktywacji czynników kontaktowych szlaku wewnątrzpochoдного. W przypadku tego odczynnika czas krzepnięcia osocza prawidłowego jest bardzo długi, powyżej 100 sekund, podczas gdy czas krzepnięcia w osoczu z niedoborem białka C jest zasadniczo taki sam, jak czas krzepnięcia w teście APTT i wynosi około 30–40 sekund. Kiedy nieznane badane osocze jest mieszane z osoczem z niedoborem białka C, poziom białka C jest proporcjonalny do wydłużenia czasu krzepnięcia.

ODCZYNNIKI

Zestaw zawiera odczynniki wystarczające do wykonania 90 testów za pomocą automatycznego analizatora koagulacji i 45 testów w przypadku zastosowania ręcznej metody punktu końcowego.

1. **ACTICLOT Activator**: 3 fiołki, 1,5 ml (liofilizowane)
2. **Protein C Deficient Plasma** (osocze z niedoborem białka C): 3 fiołki, 1,5 ml (liofilizowane)
3. **Protein C Control Plasma** (osocze kontrolne białka C): 3 fiołki, 0,5 ml (liofilizowane)
4. **Dilution Buffer** (bufor rozcieńczający): 3 fiołki, 5,0 ml, koncentrat 10x

OSTRZEŻENIE

Ten produkt zawiera materiał pochodzenia *ludzkiego*, który został uznany za niereaktywny dla antygeny powierzchniowego zapalenia wątroby typu B (HBsAg), wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) i ludzkiego wirusa niedoboru odporności typu 1 oraz typu 2 (HIV-1, HIV-2) przy użyciu zatwierdzonych metod. Ponieważ żadna ze znanych metod badawczych nie może zapewnić całkowitej pewności, że produkty uzyskane z próbek ludzkich nie będą przenosić HBsAg, HCV, HIV-1, HIV-2 lub innych patogenów krwiopochodnych, z produktem tym należy postępować zgodnie z zaleceniami dla wszelkich potencjalnie zakaźnych próbek ludzkich.

Ten produkt zawiera materiał pochodzenia *zwierzęcego*. Ponieważ żadna ze znanych metod badawczych nie daje całkowitej pewności, że produkty uzyskane z próbek zwierzęcych nie będą przenosić patogenów krwiopochodnych, z odczynnikami tym należy postępować zgodnie z zaleceniami dla wszelkich próbek potencjalnie zakaźnych.

Bufor rozcieńczający zawiera azydek sodu, który może wchodzić w reakcję z ołowianą lub miedzianą instalacją wodociagową, tworząc silnie wybuchowe azydki metali. Materiały wylwane do zlewu powinny być splukiwane dużą ilością wody, aby zapobiec gromadzeniu się azydku.

Bufor Rozcieńczający	Niebezpieczeństwo		CONT	
			Imidazol	
H315, H319, H360, P202, P280, P273, P305 + P351 + P338, P310				

Zwroty
określające
zagrożenie: H315 Działa drażniąco na skórę.
H319 Działa drażniąco na oczy.
H360 Może działać szkodliwie na płodność lub na dziecko
w łonie matki.



Zwroty
wskazujące
środki
ostrożności: P202 Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem
wszystkich środków bezpieczeństwa.
P264 Dokładnie umyć po użyciu.
P280 Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę
oczu/ochronę twarzy.
P302 + P352 W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć
dużą ilością wody.
P332 + P313 W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry:
Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P305 + P351 + P338 W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO
OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć
soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć.
Nadal płukać.
P337 + P313 W przypadku utrzymywania się działania
drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod
opiekę lekarza.

PRZYGOTOWANIE I PRZECHOWYWANIE ODCZYNNIKA

Odczynniki liofilizowane są stabilne do daty ważności podanej na etykiecie, gdy są przechowywane w temperaturze 2–8°C.



1. ACTICLOT Activator

Odtworzyć w 1,5 ml wody dejonizowanej typu I. Wymieszać/wirować do całkowitego rozpuszczenia. Odtworzony aktywator jest stabilny przez:

	4 godziny	48 godzin	3 miesiące
	37°C	2–8°C	–20°C



2. Osocze z niedoborem białka C

Odtworzyć w 1,5 ml wody dejonizowanej typu 1. Wymieszać/wirować do całkowitego rozpuszczenia. Osocze z niedoborem białka C jest stabilne:

	4 godziny
	2–8°C



3. Osocze kontrolne białka C

Odtworzyć w 0,5 ml wody dejonizowanej typu 1. Wymieszać/wirować do całkowitego rozpuszczenia. Osocze kontrolne jest stabilne:

	4 godziny
	2–8°C

4. Bufor rozcieńczający

Rozcieńczyć koncentrat buforu rozcieńczającego do 50 ml wody dejonizowanej typu 1. Bufor rozcieńczający w stężeniu roboczym jest stabilny:

	1 tydzień	1 miesiąc
	18–25°C	2–8°C

POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK

Patrz dokument „Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays; Approved Guidelines-Fifth Edition” (Pobieranie, transport i przetwarzanie próbek krwi do badania osoczowych testów krzepliwości; Zatwierdzone wytyczne — wydanie piąte), dokument CLSI H21-A5, tom 28, nr 5, 2008³.

Pobiera się dziewięć objętości krwi na 1 objętość 0,1 M cytrynianu trisodu i odwirowuje się przy 3000 x g przez 10 minut. Osocze powinno być przechowywane w temperaturze 2–8°C i oznaczone w ciągu 2 godzin. Alternatywnie, osocze może być przechowywane w temperaturze –20°C przez 1 miesiąc i rozmrożone raz w temperaturze 37°C, 30 minut przed użyciem.

PROCEDURA

Dostarczone materiały — patrz Odczynniki

Materiały wymagane, ale niedostarczane

Woda dejonizowana lub destylowana typu 1

0,025 M roztwór chlorku wapnia

Zegar do rejestracji czasu krzepnięcia

Cylinder miarowy 50 ml z podziałką

Pipeta automatyczna o zmiennej objętości (100–1000 μ l)

Kalibracja oznaczenia

Do przygotowania wzorców kalibracji białka C należy użyć puli osocza zebranego od co najmniej 10 prawidłowych dawców, zebranego w taki sam sposób, jak osocze przeznaczone do badania. Alternatywnie, do przygotowania wzorców kalibracji można użyć rozcieńczeń osocza kontrolnego białka C.

Przygotować wzorce kalibracji białka C osocza oraz próbki osocza pacjenta w następujący sposób. Wzorce i próbki należy wykorzystać natychmiast po przygotowaniu.

Wzorzec/próbka	Objętość puli osocza prawidłowego	Objętość buforu rozcieńczającego
100%	100 μ l	400 μ l
50%	250 μ l	250 μ l
25%	250 μ l	250 μ l
12,5%	250 μ l	250 μ l
Próbka pacjenta	50 μ l	450 μ l

Procedura testu

Test ACTICLOT C można wykonywać ręcznie lub za pomocą półautomatycznych lub automatycznych analizatorów koagulacji (koagulometrów).

Metoda z użyciem automatycznych koagulometrów

Firma BioMedica Diagnostics oferuje aplikacje urządzenia testu ACTICLOT C dla kilku koagulometrów. Aplikacje urządzenia mogą obejmować instrukcje programowania specyficzne dla danej platformy oraz dane wydajności różne od zamieszczonych w instrukcji użycia. W takich przypadkach informacje zamieszczone w aplikacji urządzenia mają pierwszeństwo nad informacjami zamieszczonymi w instrukcji użycia. W celu uzyskania pełnych instrukcji postępowania należy zapoznać się z instrukcją obsługi producenta danego urządzenia.

Ręczna metoda punktu końcowego

Przenieś odczynnik ACTICLOT Activator i 25 mM roztwór chlorku wapnia do dołków reakcyjnych o temperaturze 37°C.

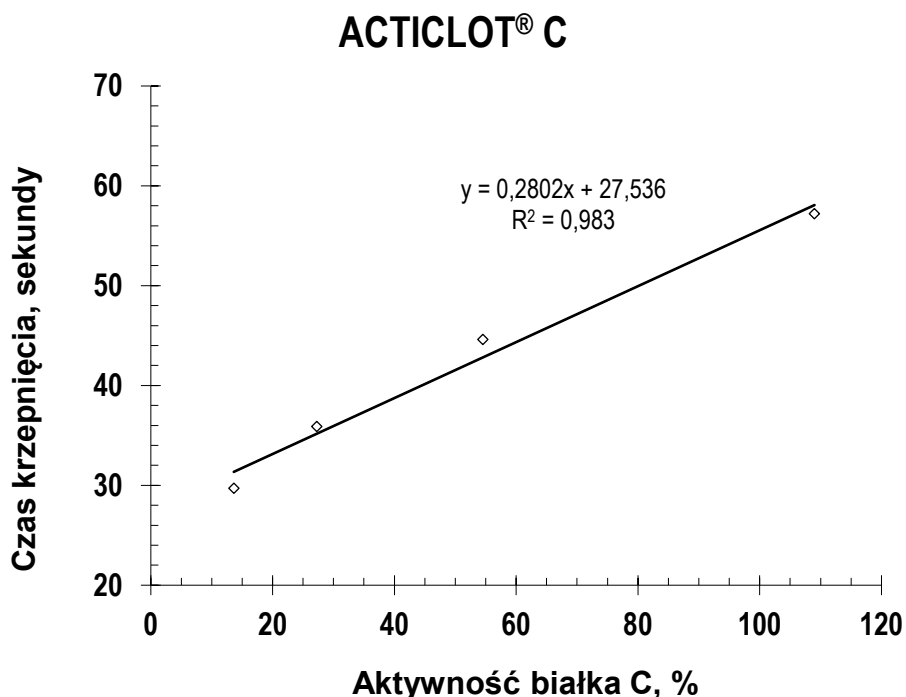
1. Do kuwety koagulacyjnej dodaj 0,1 ml osocza Protein C Deficient oraz 0,1 ml standardowego rozcieńczenia lub próbki pobranej od pacjenta.
2. Inkubuj w temperaturze 37°C przez 2 minuty.
3. Dodaj 0,1 ml aktywatora ACTICLOT Activator.
4. Inkubuj w temperaturze 37°C przez 5 minut.
5. Dodaj 0,1 ml 0,025 M roztworu chlorku wapnia.
6. Uruchom zegar do rejestracji czasu krzepnięcia i zapisz czas krzepnięcia.
7. Wykonaj podwójne oznaczenia dla każdego rozcieńczenia osocza.

WYNIKI

Reprezentatywna krzywa standardowa

Krzywą standardową tworzy się przez wykreślenie średniego czasu krzepnięcia dla każdego wzorca białka C względem odpowiadającej mu aktywności w procentach. Krzywą standardową należy przygotować każdorazowo podczas wykonywania testu. Wykreśl linię najlepszego dopasowania pomiędzy punktami, zwykle opisywaną równaniem liniowym, do analizy danych.

Poniższa krzywa standardowa służy wyłącznie do celów demonstracyjnych.



OBLICZANIE WYNIKÓW

Oznaczyć % białka C w badanej próbce poprzez interpolację z krzywej wzorcowej i pomnożenie wyniku przez dwa w celu uwzględnienia rozcieńczenia. W przypadku pacjentów z antykoagulantami toczeniowymi lub z nieprawidłowo wysoką aktywnością białka C, u których oznaczono wielokrotne rozcieńczenia, należy skorygować poziom białka C odpowiednio do rozcieńczenia. Skorygowane poziomy białka C z co najmniej dwóch rozcieńczeń muszą być zgodne.

KONTROLA JAKOŚCI

Osocze kontrolne Protein C Control zawarte w zestawie zostało ocenione pod kątem zgodności z uznanym międzynarodowym materiałem referencyjnym i może być testowane w ramach laboratoryjnego programu kontroli jakości. Osocze kontrolne powinno być włączone do badania zawsze wtedy, gdy używane są świeżo odtworzone odczynniki. Poziom uzyskany dla osocza kontrolnego powinien mieścić się w zakresie określonym przez dostawcę lub laboratorium. Jeśli wynik poziomu białka C dla osocza kontrolnego nie mieści się w określonym zakresie, badanie należy powtórzyć. Jeśli powtórne oznaczenie kontroli nie da wyniku poziomu białka C w dopuszczalnych granicach, należy skontaktować się z firmą BioMedica Diagnostics.

OGRANICZENIA PROCEDURY

Próbki pacjentów z antykoagulantami tocznia powinny być badane w wielu rozcieńczeniach, ponieważ z wydłużonego czasu krzepnięcia można wywnioskować sztucznie zawyżony poziom białka C.

U pacjentów z nieprawidłowo wysokim poziomem czynnika VIII można uzyskać nieprawidłowo niski poziom białka C, ponieważ możliwe jest uzyskanie krótszego czasu krzepnięcia w osoczu z niedoborem białka C. Próbki te powinny być badane w wielu rozcieńczeniach.

SUBSTANCJE ZAKŁÓCAJĄCE

Następujące substancje w podanych stężeniach mogą zakłócać działanie testu ACTICLOT C.

Substancja	Stężenie
Heparyna niefrakcjonowana (UFH)	> 4 jedn./ml
Heparyna drobnocząsteczkowa (LMWH)	> 2 jedn./ml
Hemoglobina	> 500 mg/dl
Bilirubina	> 21 mg/dl
Trójglicerydy	> 900 mg/dl

CHARAKTERYSTYKA SKUTECZNOŚCI

Dokładność

W badaniu klinicznym porównującym ACTICLOT C z testem ELISA na białko C uzyskano następujące wyniki:

Stężenie białka C w osoczu (% normy, średnia \pm SD)

Stan patologiczny	N	ACTICLOT C	Test ELISA na białko C
Prawidłowe	40	89,0 \pm 17,0	94,0 \pm 16,0
DIC	10	29,4 \pm 11,9	34,2 \pm 13,0
Choroba wątroby	10	18,6 \pm 9,6	20,1 \pm 14,6
Niedobór białka C, wrodzony	10	37,9 \pm 7,1	45,0 \pm 8,1
Noworodki*	12	21,9 \pm 5,3	19,3 \pm 8,0
Heparynizowane	10	93,7 \pm 16,1	93,5 \pm 14,2
Warfaryna	20	23,2 \pm 9,0	57,7 \pm 15,7

* np. zespół zaburzeń oddechowych, sepsa, zakrzepica, niewydolność nerek

Korelacja pomiędzy ACTICLOT C a testem ELISA na białko C (nie obejmuje pacjentów z warfaryną):

Regresja	Współczynnik korelacji	Standardowy błąd oszacowania
$y = 0,93x + 0,0014$	0,952	0,086

Precyzja


Współczynnik zmienności testu ACTICLOT C został określony na podstawie próbek przygotowanych poprzez zmieszanie osocza zubożonego immunologicznie o białko C z pulą osocza prawidłowego w celu uzyskania zawartości białka C na poziomie 10%, 50% i 100%.

Poziom białka C	Zmienność w ramach testu	Zmienność pomiędzy testami
100%	5,9%	2,4%
50%	4,7%	3,9%
10%	9,1%	9,3%

LITERATURA

1. Stocker, K., Fischer, H., Mejer, J., Brogil, M. and Svendsen, L: Characterization of the protein C activator Protac from the venom of the Southern Copperhead (*Agkistrodon contortrix*) snake. *Toxicol.* 1987, 25: 239-252.
2. Martinoli, J. L. and Stocker, K. Fast functional protein C assay using Protac, a novel protein C activator. *Thromb. Res.* 1986, 43: 253-264.
3. *Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guidelines-Fifth Edition*, CLSI Document H21-A5, Vol. 28, No. 5, 2008.

DEFINICJE SYMBOLI

	Sprawdź w instrukcji użycia		Ostrzeżenie
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Ograniczenia temperatury Przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C
	Numer serii		Numer katalogowy
	Data ważności		Wytwórca
	Zawartość wystarczająca na <n> oznaczeń		Zawiera...
	Znak CE		Autoryzowany przedstawiciel w Unii Europejskiej