Версия 2013.01

**Кат. № PF1051-K**

**Только для диагностики ин-витро**

**Тест-система для определения Д-Димера PATHFAST**

**(PATHFAST™ D-Dimer)**

**60 определений**

*Предназначение*

Тест-система для определения Д-Димера (PATHFAST D-Dimer) предназначена для ин-витро диагностики на анализаторе PATHFAST и служит для количественного определения концентрации Д-димера в гепаринизированной или цитратной цельной крови и плазме. Результат анализа используется для помощи в диагностике, особенно для исключения диагноза тромбоза глубоких вен (ТГВ) и легочной эмболии (ЛЭ).

*Описание*

Д-димер, содержащий фрагменты деградации фибрина (XDP), выделяется, когда перекрестно сшитый фибрин расщепляется плазмином. Д-димер - специфический маркер деградации фактора XIIIa фибринового сгустка и косвенный ранний маркер активации свертывания и образования сгустка [1]. Концентрация Д-димера в плазме повышается при некоторых клинических состояниях, включая ТГВ, ТЭЛА и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС). Исключить диагноз ТГВ или ТЭЛА возможно, если концентрация Д-димера ниже установленного строгими клиническими исследованиями пограничного (cut off) уровня [2-8]. Измерение Д-димера может также использоваться для диагностики и мониторинга ДВС-синдрома [9].

Тест-система для определения Д-Димера является анализом для количественного измерения Д-димера в формате хемилюминесцентного иммуноферментного анализа (CLEIA). Все необходимые для проведения тестирования компоненты упакованы в одном картридже. После загрузки картриджа в диагностический анализатор PATHFAST, количественный результат может быть получен через 17 минут.

*Состав набора*

1. Картриджи с реагентами: 60 картриджей (6 х 10 уп.).

Каждый картридж с реагентами состоит из 16 лунок. Все лунки кроме лунки для проб (№1) и счетной лунки (№10) запечатаны алюминиевой фольгой со штрих-кодом. Каждая лунка картриджа заполнена реагентами для тестирования.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Лунки | Форма | Состав | Коли-чество | Источник |
| №2 | Жидкая | Щелочная фосфатаза,  конъюгированная с MoAb\* к D-димеру в  MES\*\* буфере с  Натрия азидом | 50 мкл  < 0,1% | Кишечник теленка  Мышиные |
| №7 | Жидкая | MoAb\*к D-димеру на магнитных частицах в  MOPS\*\*\* буфере | 50 мкл | Мышиные |
| №13 | Жидкая | Хемилюминесцентный субстрат CDP-Star® | 100 мкл |  |
| №11 | Жидкая | Буфер для разведения образцов в составе:  Трис-буфер  Натрия азид | 50 мкл  < 0,1% |  |
| №3, 4, 5 | Жидкая | Промывочный буфер в составе:  Трис-буфер  Натрия азид | 400 мкл  < 0,1% |  |

№№ 1, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16 – пустые лунки

\*MoAb - моноклональные антитела

\*\* MES - 2- морфолинэтансульфоновая кислота, моногидрат

\*\*\*MOPS - 3-морфолинпропансульфоновая кислота

CDP-Star® - зарегистрированная торговая марка Applied Biosystems

2. Калибратор 1 (CAL-1) 1 флакон x 2,0 мл (жидкий)

3. Калибратор 2 (CAL-2) 2 флакона для 1,0 мл (лиофилиз.)

4. Растворитель для калибратора 2 флакона x 1,0 мл (жидкий)

5. Карта эталонной калибровки (MC Entry Card) 1 штука

6. Инструкция 1 штука

*Необходимые материалы и оборудование*

Анализатор PATHFASTTM и расходные материалы.

Д-димер контроль – рекомендуется контрольный материал Bio-Rad Liquichek D-Dimer Control, кат. №№ 356, 357 и 358.

*Принцип анализа*

Процедура проведения анализа основана на методе хемилюминесцентного иммуноферментного анализа (CLEIA) с использованием технологии MAGTRATION®. В этой процедуре моноклональные антитела к Д-димеру, связанные со щелочной фосфатазой и моноклональные антитела к Д-димеру на магнитных частицах смешиваются с пробами гепаринизированной или цитратной крови или плазмы. Д-димер пробы связывается с антителами к Д-димеру, образуя иммунокомплекс с мечеными ферментом антителами и антителами на магнитных частицах. После удаления несвязавшегося материала к иммунному комплексу добавляется хемилюминесцентный субстрат. После короткой инкубации под воздействием ферментной реакции в смеси начинается люминесценция, интенсивность которой зависит от концентрации Д-димера в пробе. Расчет результата проводится по стандартной калибровочной кривой.

\*MAGTRATION® - технология разделения B/F (связанного/свободного материала) с промывкой магнитных частиц в наконечниках. Технология является зарегистрированной торговой маркой Precision System Science.

*Меры предосторожности*

Картриджи с реагентами:

1. Не использовать реагенты по окончании срока хранения.
2. Не использовать картриджи повторно, это одноразовые расходные материалы.
3. Не снимать алюминиевую фольгу с картриджа.
4. Держать картридж только за край и не касаться пальцами алюминиевого покрытия и черной счетной лунки.
5. Не пользоваться поврежденными картриджами.
6. Избегать попадания слюны в черную счетную лунку.
7. Избегать загрязнения реагентов и их экспозиции на прямом солнечном свету.
8. При некоторых условиях хранения и транспортировки может наблюдаться слипание алюминиевого покрытия картриджей. Если такое наблюдается, аккуратно разделите картриджи на столе.
9. Азид натрия, содержащийся в реагентах, может вступать в реакцию с медью и свинцом в водопроводных системах с образованием взрывоопасных солей. Содержание этого вещества в реагентах крайне мало, но, тем не менее, при утилизации азид-содержащих материалов, они должны смываться большим количеством воды.
10. Утилизировать отходы в соответствии с национальными правилами утилизации биологических отходов. Соблюдать общие меры предосторожности и обращаться со всеми компонентами как с потенциально инфекционными агентами.

*Условия хранения*

Хранить при +2 +8ºС. Не открывать картридж до использования.

*Срок хранения*

Срок хранения указан на картридже, коробках с картриджами и упаковке.

*Сбор проб*

1. Использовать цельную кровь или плазму, собранные стандартной процедурой в пробирки с натрия гепаринатом, лития гепаринатом, Na2-ЭДТА, К2-ЭДТА или натрия цитратом.
2. Пробы цельной крови должны быть проанализированы в течение 4 часов после сбора.
3. Перед использованием проб следует убедиться, что она не содержит фибриновых нитей и других нерастворимых частиц, в противном случае образец необходимо осветлить центрифугированием или фильтрацией.

Примечания:

1. При использовании цельной крови ввод значения гематокрита пробы является дополнительной опцией в PATHFAST. Подробности процедуры см. в руководстве пользователя для прибора.
2. Пробы с концентрацией Д-димера >5 мкг/мл ФЭЕ следует развести физраствором и протестировать повторно для получения точного результата. При этом необходимо учитывать коэффициент разведения.

*Стабильность проб*

Цитратная, ЭДТА и гепаринизированная плазма:

1. +15 – +25°C: 4 ч
2. +2 - +8°C: 24 ч
3. -20°C: 6 месяцев (однократная заморозка)
4. -60°C 3 года (однократная заморозка)

*Подготовка реагентов и проведение анализа*

*Подготовка реагентов*

1. Картридж с реагентами

Готов к использованию.

1. Калибратор CAL-1

Готов к использованию.

1. Калибратор CAL-2

Восстановить флакон с калибратором 2 (CAL-2) до полного объема при помощи добавления содержимого одного флакона растворителя для калибратора. Восстановленный калибратор сохраняет стабильность в течение 3 дней при +2+8º С или 3 месяца при –20º C.

Примечание:

При восстановлении калибратора используйте одинаковые лоты калибратора 2 и растворителя для калибратора. Никогда не смешивайте разные лоты калибратора и растворителя.

*Установка основной калибровочной кривой*

1. Установка основной калибровочной кривой проводится каждый раз при начале использования нового лота реагентов.
2. Установка основной калибровочной кривой производится путем считывания карты эталонной калибровки (MS ENTRY CARD), вложенной в упаковку, с помощью ручного считывателя штрих-кодов для PATHFAST. Подробную процедуру см. в руководстве пользователя для прибора.

*Пользовательская калибровка*

1. Проведение пользовательской калибровки необходимо каждый раз при начале использования нового лота реагентов. Калибровка делается после установки основной калибровочной кривой по карте эталонной калибровки.
2. Пользовательскую калибровку необходимо обновлять каждые 4 недели после проведения первой калибровки (карта эталонной калибровки для этого не нужна).
3. Должны быть протестированы оба калибратора в дублях. Следовательно, для проведения калибровки требуются 4 картриджа, два для калибратора 1 и два для калибратора 2.
4. Установите реагентные картриджи в кассету для картриджей на приборе, потом внесите примерно по 100 мкл калибратора 1 и калибратора 2 в лунки для проб, установите в гнезда для наконечников на приборе новые наконечники напротив картриджей, опустите крышку и запустите прибор в режиме калибровки. Крышка автоматически заблокируется, и начнется тестирование. Через 17 мин результат будет выведен на дисплей и на печать. Подробности процедуры см. в руководстве пользователя для прибора.
5. Откройте крышку, удалите картриджи и наконечники в отходы.

*Контроль качества*

1. Контроль качества проводится после каждой калибровки для того, чтобы проверить калибровочные кривые и сохранить контрольные данные для контроля качества анализов. Контроль качества обязателен для гарантии точности результатов. После каждой калибровки, в каждой новой партии реагентов, или всякий раз, когда необходимо проверить точность результатов, нужно сравнить два уровня контрольных материалов с известными уровнями Д-димера.
2. Правила GLP (Надлежащей лабораторной практики) рекомендуют использование соответствующего контроля качества. Для контроля качества рекомендуется соблюдать положения федеральных, областных и местных правил. Если контроль не проводится надлежащим образом, не используйте результаты тестов. Повторите тест или обратитесь к вашему авторизованному дистрибьютору PATHFAST для технической поддержки.

*Процедура тестирования*

1. В качестве пробы используйте гепаринизированную или цитратную цельную кровь или плазму (натрия гепаринат, лития гепаринат, Na2-ЭДТА, К2-ЭДТА, натрия цитрат).
2. Установите картридж с реагентами в кассету для картриджей на приборе, потом внесите примерно 100 мкл пробы в лунку для проб на картридже, установите в гнездо для наконечников на приборе новый наконечник напротив картриджа, опустите крышку и запустите прибор кнопкой «Start». Подробности процедуры см. в руководстве пользователя для прибора. Результат будет выведен на дисплей и на печать.
3. Откройте крышку, удалите картриджи и наконечники в отходы.

Примечания:

1. При использовании цельной крови ввод значения гематокрита пробы является дополнительной опцией в PATHFAST. Подробности процедуры см. в руководстве пользователя для прибора.
2. Пробы с концентрацией Д-димера >5 мкг/мл ФЭЕ следует развести физраствором и протестировать повторно для получения точного результата. При этом необходимо учитывать коэффициент разведения.

*Референтные уровни*

Результат выводится в мкг/мл ФЭЕ (фибриноген-эквивалентных единиц). Результат может быть переведен в мкг/мл путем умножения на коэффициент 0,5.

1. Референтные уровни могут отличаться от лаборатории к лаборатории, от страны к стране в зависимости от множества факторов. Поэтому каждой лаборатории рекомендуется устанавливать собственные референтные уровни.
2. Референтный интервал для теста был определен на 73 здоровых индивидах. Уровень Д-димера составил 0,063-0,701 мкг/мл ФЭЕ (что соответствует 32-350 нг/мл) в 95% доверительном интервале (в диапазоне от 2,5 до 97,5%). Измеренные уровни Д-димера находились в диапазоне от 0,036 мкг/мл ФЭЕ (18 нг/мл) до 0,708 мкг/мл ФЭЕ (354 нг/мл) со средним значением 0,239 мкг/мл ФЭЕ (120 нг/мл).
3. Предварительный пограничный уровень для исключения тромбоэмболии (cut off) был установлен в 0,5 мкг/мл ФЭЕ. он был установлен на 60 пробах плазмы, полученных от пациентов с легочной эмболией, независимо диагностированной по данным эхокардиографии, спиральной компьютерной томографии и легочной ангиографии [8].

*Специфические рабочие характеристики теста*

1. Диапазон результатов: 0,005 - 5 мкг/мл ФЭЕ.
2. Сравнение с другими методами (пробы плазмы)

y=0,99x + 0,198, r=0,913, n=113

(y - данный метод, x - Dade Behring Stratus® CS D-Dimer (Stratus ® - зарегистрированная торговая марка Dade Behring Inc.), n – количество испытаний).

y = 1,1341 x – 0,0025, r = 0,902, n = 66

（y - данный метод; x - Biomerieux Vidas ® D-dimer 2）

1. Корреляция между результатами PATHFAST по цельной крови и плазме

y=1,01x + 0,003, r=0,994, n=68

(y – гепаринизированная цельная кровь, x – гепаринизированная плазма)

y = 1,01 x – 0,004; r = 0,953, n = 26

（y – ЭДТА цельная кровь; x - ЭДТА плазма)

y=1,10x - 0,012, r=0,996, n=68

(y – цитратная цельная кровь, x – цитратная плазма)

y=0,90x + 0,0002, r=0,989, n=68

(y – цитратная цельная кровь, x – гепаринизированная цельная кровь)

1. Стандартизация

Калибраторы для тест-системы для определения Д-димера состоят из высокомолекулярной фракции продуктов деградации перекрестно-сшитого фибрина, полученных с помощью расщепления плазмином.

1. Точность измерений

Воспроизводимость определялась с помощью настоящего метода на 3 контрольных материалах по следующему протоколу: каждый из трех проб плазмы исследовался в дублях в течение 20 случайных дней. Внутритестовые и общие стандартные отклонения рассчитывались по протоколу NCCLS EP-5A. Были получены следующие результаты.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образец | Среднее (мкг/мл ФЭЕ) | Внутритестовая точность | | Межтестовая точность | |
| С.О. (мкг/мл ФЭЕ) | К.В.(%) | С.О. (мкг/мл ФЭЕ) | К.В.(%) |
| Контроль низкого уровня | 0,024 | 0,001 | 3,9 | 1,002 | 6,9 |
| Контроль среднего уровня | 0,249 | 0,007 | 2,9 | 0,015 | 6,0 |
| Контроль высокого уровня | 2,448 | 0,120 | 4,9 | 0,174 | 7,1 |

С.О. – стандартное отклонение, К.В. – коэффициент вариации.

1. Предел чувствительности: 0,005 мкг/мл ФЭЕ.

Установлен как самая низкая анализируемая концентрация плюс 2 стандартных отклонения от среднего значения нулевого калибратора.

*Возможные взаимодействия*

Как было обнаружено, следующие вещества в нижеуказанных концентрациях оказывали влияние менее 10% на результаты тестирования.

Свободный билирубин 60 мг/дл

Связанный билирубин 60 мг/дл

Триглицериды, липемия проб 1000 мг/дл

Гемоглобин (при гемолизе) 1000 мг/дл

Ревматоидный фактор 500 МЕ/мл

Высокая концентрация E-фрагментов, которые обнаруживаются у пациентов, получающих тромболитическую терапию, может приводить к заниженным результатам.

*Ограничения процедуры*

1. Система оповещения об ошибках в приборе содержит кодовые обозначения ошибок для предупреждения персонала о неисправностях. Любой отчет об ошибке, содержащий такие коды, должен быть сохранен.
2. Пробы пациентов могут содержать гетерофильные антитела, которые могут вступать в иммунную реакцию и таким образом влиять на результаты, как завышая, так и занижая их. Этот тест был разработан так, чтобы минимизировать такие влияния. Тем не менее, полная защита от такого влияния не может быть гарантирована. Результат теста, не согласующийся с общей клинической картиной и анамнезом должен интерпретироваться с осторожностью.

*Ссылки*

1. Hunt FA, Rylett DB, Hart RA, Bundesen PG. Serum crosslinked fibrin (XPD) and fibrinogen/fibrin degradation products (FDP) in disorders associated with activation of the coagulation or fibrinolytic system. BrJ Haematol 1985;60:715-722
2. Bick R.L. Baker WF. Diagnostic efficacy of the D-dimer assay in disseminated intravascular coagulation (DIC). Thromb Res 1992; 65:785 – 790.
3. Bounameaux H, de Moerloose P, Perrier A, Reber G. Plasma measurement of D-dimer as diagnostic aid in suspected venous thromboembolism: an overview. Thromb. Haemost. 1994; 71: 1 – 6.
4. Bounameaux H, de Moerloose P, Perrier A, Miron MJ. D-dimer testing in suspected venous thromboembolism: an update. QJ Med 1997; 90: 437 – 442.
5. Janssen MC, Heebels AE, de Metz M et al. Realibility of five rapid D-dimer assays compared to ELISA in the exclusion of deep venous thrombosis. Thromb Haemost 1997;77:262-266.
6. Freyburger G, 1992 Trillaud H, Labrouche S et al. D-dimer strategy in thrombosis exclusion. A good standard study in 100 patients suspected of deep venous thrombosis or pulmonary embolism: 8 DD methods compared. Thromb Haemost 1998; 79: 32 – 37.
7. Perrier A, Desmarais S, Miron MJ et al. Non-invasive diagnosis of venous thromboembolism in outpatients. Lancet 1999; 353: 190 – 195.
8. Fukuda T, Kasai H, A rapid and quantitative D-dimer assay in whole blood and plasma on the point –of-. care PATHFAST analyser. Thromb Res (2007); 10 :1016-1020.
9. Ivandic BT, Spanuth E, Giannitsis E. PATHFAST D-Dimer vs. VIDAS D-dimer Exclusion- a comperative evaluation in emergency patients with post hoc confirmed pulmonary embolism, Poster at 55th Annual meeting of the Society of Thrombosis and Haemostasis Research 16-19 Feb. 2011,Wiesbaden.
10. Bick RL, Baker W. Diagnostic efficacy of the D-dimer assay in DIC and related disorders. Blood 1986;68:329.
11. Lewis MR et al. Longitudinal stability of coagulation, fibrinolysis, and inflammation factors in stored plasma samples. Thromb Haemost 2001;86:1495-500.
12. Böhm-Weigert M et al. Long- and short-term in vitro D-dimer stability measured with INNOVANCE D-dimer. Thromb Haemost 2010;103:461-5.

***Символы***

|  |  |
| --- | --- |
|  | Соответствие европейским требованиям |
|  | Для ин-витро диагностики |
|  | Номер лота |
|  | Каталожный номер продукта |
|  | Производитель |
|  | Уполномоченный представитель |
|  | Содержимого достаточно для |
|  | Температурные ограничения |
|  | Срок хранения |
|  | Обратите внимание на справочную документацию |
|  | Следуйте инструкции |
|  | Калибратор 1 |
|  | Калибратор 2 |
|  | Разбавитель для калибраторов |
|  | Карта эталонной калибровки |

\* PATHFASTTM – LSI Medience Corporation.