Версия 2013.01

**Кат. № PF1091-K**

**Только для диагностики ин-витро**

**Тест-система для определения ХГЧ PATHFAST**

**(PATHFAST™ HCG)**

**60 определений**

*Предназначение*

Тест-система для определения ХГЧ (PATHFAST HCG) предназначена для ин-витро диагностики на анализаторе PATHFAST и служит для количественного определения концентрации хорионгонадотропина человека (ХГЧ) в гепаринизированной или ЭДТА цельной крови или плазме и в сыворотке. Результат анализа используется для помощи в диагностике беременности. Тест-система предназначена для клинико-диагностических лабораторий и экспресс-диагностики.

*Описание*

Хорионгонадотропин человека (ХГЧ) – сиалогликопротеиновый гормон, вырабатываемый плацентой вскоре после имплантации оплодотворенной яйцеклетки в стенку матки.1,2 Быстрое повышение уровня ХГЧ в крови после зачатия делает его великолепным маркером для подтверждения и мониторинга беременности. ХГЧ состоит из двух субъединиц (α- и β-субъединицы), которые связаны в интактном гормоне. α-Субъединица ХГЧ идентична альфа-субъединицам лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и тиреотропного гормона (ТТГ), в то время как β-субъединица значительно отличается и отвечает за конкретные гормональные функции.3 Пик концентрации ХГЧ в крови приходится на 8-12 неделю беременности, затем она падает и вновь незначительно повышается на 30 неделе беременности. Субъединицы в крови быстро разрушаются и выводятся почками.4

Тест-система для определения ХГЧ является анализом для количественного измерения ХГЧ в формате хемилюминесцентного иммуноферментного анализа (CLEIA). В тесте используются два вида моноклональных антител, распознающих β-ХГЧ, так что тестом определяется общий β-ХГЧ, включающий свободный β-ХГЧ и интактный α-β-димер ХГЧ. 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.).

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 | Количество | Источник |
| №2 | Жидкая | Щелочная фосфатаза,  конъюгированная с MoAb\* к ХГЧ в  MES\*\* Буфере с  Натрия азидом | 50 мкл  < 0,1% | Микробная  Мышиные |
| №7 | Жидкая | MoAb\*к ХГЧ 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:  MES буфер с  Натрия азидом | 25 мкл  < 0,1% |  |
| №3, 4, 5 | Жидкая | Промывочный буфер в составе:  MES буфер с  Натрия азидом | 400 мкл  < 0,1% |  |

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

\*MoAb - моноклональные антитела

\*\*MES - 2-морфолиноэтансульфоновой кислоты моногидрат

\*\*MOPS - 3-морфолинпропансульфоновая кислота

CDP-Star® - зарегистрированная торговая марка Applied Biosystems

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

с натрия азидом (0,05%)

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

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

с натрия азидом (0,05%)

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

6. Инструкция по применению 1 штука

*Необходимые материалы и оборудование*

Анализатор PATHFASTTM и расходные материалы

ХГЧ контроль PATHFAST. кат. № PF0091C.

*Принцип анализа*

Процедура проведения анализа основана на методе хемилюминесцентного иммуноферментного анализа (CLEIA) с использованием технологии MAGTRATION®. В этой процедуре моноклональные антитела к ХГЧ, связанные со щелочной фосфатазой и моноклональные антитела к ХГЧ на магнитных частицах смешиваются с пробой. ХГЧ пробы связывается с антителами к ХГЧ, образуя иммунокомплекс с меченными 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 ХГЧ 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. Не использовать картриджи, хранившиеся при комнатной температуре.
7. Избегать попадания слюны в черную счетную лунку.
8. Избегать загрязнения реагентов и их экспозиции на прямом солнечном свету.
9. При некоторых условиях хранения и транспортировки может наблюдаться слипание алюминиевого покрытия картриджей. Если такое наблюдается, аккуратно разделите картриджи на столе.
10. 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.
11. 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 или K2-ЭДТА.
2. Пробы цельной крови должны быть проанализированы в течение 4 часов после сбора. Непосредственно перед внесением пробы цельной крови в лунку на картридже, следует осторожно смешать кровь в пробирке (не использовать вихревой смеситель вортекс). После внесения пробы цельной крови и загрузки картриджа в анализатор анализ должен быть начат немедленно.
3. Перед использованием пробы следует убедиться, что она не содержит фибриновых нитей и других нерастворимых частиц, в противном случае образец необходимо осветлить центрифугированием или фильтрацией.
4. Пробы плазмы остаются стабильными в течение 4 дней при температуре +2+8оС и до 2 месяцев при -20оС и ниже. В любом случае размороженные пробы нельзя повторно замораживать.
5. Пробы сыворотки остаются стабильными в течение 7 дней при температуре +2+8оС и до 2 месяцев при -20оС и ниже. В любом случае размороженные пробы нельзя повторно замораживать.
6. Перед проведением анализа все ранее замороженные пробы и пробы, хранившиеся до анализа более 12 часов, следует перемешать, а затем отцентрифугировать при 2,500 - 3,000 g в течение 10 минут.

*Подготовка реагентов и проведение анализа*

*Подготовка реагентов*

1. Картридж с реагентами

Готов к использованию.

1. Калибратор 1 (CAL-1)

Готов к использованию.

Вскрытый флакон с калибратором может храниться до трех месяца плотно закрытым при +2 +8°C и ниже.

1. Калибратор 2 (CAL-2)

Восстановить каждый флакон калибратора 2 при помощи содержимого одного флакона растворителя для калибратора. Оставить на столе на 10 минут при комнатной температуре для полного растворения. Восстановленный калибратор может храниться до 3 дней при +2 + 8°C и 3 месяца при–20°C и ниже.

Примечание.

Калибратор 2 содержит бычий сывороточный альбумин (БСА). Обращаться с осторожностью, избегать контакта с кожей.

*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 ХГЧ.
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 проб*

1. В качестве пробы используйте гепаринизированную или ЭДТА цельную кровь, плазму или сыворотку.
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 работе с пробой цельной крови, непосредственно перед внесением цельной крови в лунку для проб в картридже следует осторожно перемешать образец в пробирке (не использовать вихревой смеситель «вортекс»). После внесения пробы цельной крови и загрузки картриджа в анализатор PATHFAST анализ должен быть начат немедленно.
2. Если пробы остаются в лунке для проб более 5 минут, может быть получен более низкий результат при тестировании цельной крови из-за осаждения пробы, или более высокий результат при тестировании плазмы из-за концентрирования.
3. При использовании цельной крови ввод значения гематокрита пробы является дополнительной опцией в PATHFAST. Подробности процедуры см. в руководстве пользователя для прибора.
4. Пробы с концентрацией ХГЧ >500 мМЕ/мл следует развести физраствором и протестировать повторно для получения точного результата. При этом необходимо учитывать коэффициент разведения. Если такая точность не нужна, результат может быть представлен как >500 мМЕ/мл.

*Референтные уровни*

Референтные уровни могут различаться от лаборатории к лаборатории, от страны к стране в зависимости от множества факторов. Поэтому каждой лаборатории рекомендуется устанавливать собственные референтные уровни.

*Диапазон референтных уровней для тест-системы*

Мужчины и небеременные женщины (пробы плазмы)

Исследование проводилось на пробах плазмы 355 взрослых индивидов, включая 214 мужчин и 141 небеременную женщину. 97,5% результатов для мужчин были ниже минимально определяемого уровня (1,0 мМЕ/мл) и все результаты были ниже 1,22 мМЕ/мл, в то время как 91% результатов небеременных женщин был ниже предела определения, 95% - ниже 1,60 мМЕ/мл и все результаты - ниже 2,37 мМЕ/мл.

Мужчины и небеременные женщины (пробы сыворотки)

Исследование проводилось на пробах сыворотки от 299 взрослых индивидов, включая 150 мужчин и 149 небеременных женщин. 98,5% результатов для мужчин были ниже минимально определяемого уровня (1,0 мМЕ/мл) и все результаты были ниже 1,24 мМЕ/мл, в то время как 87% результатов небеременных женщин был ниже предела определения, 95% - ниже 2,61 мМЕ/мл и все результаты - ниже 5,57 мМЕ/мл.

205 проб от практически здоровых беременных женщин были протестированы с помощью данного теста. Результаты представлены ниже (в мМЕ / мл) по сроку беременности.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Неделя беременности | Кол-во | ХГЧ (мМЕ/мл) | |
| Среднее значение | 95% перцентиль |
| 4-5  5-6  6-7  7-8  8-9  9-12  12-15  15-18 | 20  14  20  19  20  60  24  28 | 12 541  28 158  62 413  81 227  115 126  89 496  50 345  23 544 | 4 236-56 519  5 136-88 223  16 253-183 896  37 363-185 098  46 203-214 355  28 354-185 910  11 068-148 456  8 604-49 553 |

Патологические состояния

При внематочной или эктопической беременности уровни ХГЧ в кровяном русле ниже нормы для данного срока беременности; после первоначального увеличения этих уровней они выходят на плато или падают.5,6,7

*Специфические рабочие характеристики теста*

1. Диапазон результатов: 1,00-500 мМЕ/мл согласно 4-ому Международному Стандарту ВОЗ 75/537.
2. Сравнение с другими методами (методом линейной регрессии)

y = 1,022 x + 2,10; r = 0,997, n = 120 (пробы плазмы)

y = 1,024 x – 1,12; r = 0,994, n = 119 (пробы сыворотки)

(y - данный метод, x - Siemens IMMULITE® HCG (IMMULITE® - зарегистрированная торговая марка Siemens Healthcare Diagnostics), n – количество испытаний).

1. Корреляция между результатами PATHFAST по цельной крови и плазме (метод регрессии Пассинга-Баблока)

y = 1,036 x + 0,128; r = 0,994; n = 70 (y: Li-гепаринизированная цельная кровь, x: Li- гепаринизированная плазма)

y = 1,036 x + 0,161; r = 0,997; n = 70 (y: Na- гепаринизированная цельная кровь, x: Li- гепаринизированная плазма)

y = 0,975 x – 0,102; r = 0,997; n = 70 (y: Na- гепаринизированная плазма, x: Li- гепаринизированная плазма)

y = 1,023 x + 0,147; r = 0,996; n = 70 (y: Na2-ЭДТА- цельная кровь, x: Li- гепаринизированная плазма)

y = 0,963 x + 0,008; r = 0,997; n = 70 (y: Na2-ЭДТА плазма, x: Li- гепаринизированная плазма)

y = 1,017 x + 0,142; r = 0,995; n = 70 (y: K2-ЭДТА- цельная кровь, x: Li- гепаринизированная плазма)

y = 0,977 x + 0,009; r = 0,998; n = 70 (y: K2-ЭДТА плазма, x: Li- гепаринизированная плазма)

1. Корреляция между результатами PATHFAST по сыворотке и плазме (метод регрессии Пассинга-Баблока)

y = 1,039 x – 0,130; r = 0,999; n = 84 (y: Li-гепаринизированная плазма, x: сыворотка)

1. Стандартизация

Калибраторы для тест-системы для определения ХГЧ соотносятся с Международным Стандартом ВОЗ для ХГЧ (4-ый МС 75/589).

1. Точность измерений

Воспроизводимость определялась с помощью настоящего метода на 4 контрольных материалах по следующему протоколу: каждый из четырех проб сыворотки и плазмы в дублях исследовался в течение 20 случайных дней. Внутритестовые и общие стандартные отклонения рассчитывались по протоколу NCCLS EP5-A2 [ISBN 1-56238-542-9]. Были получены следующие результаты.

Пробы плазмы

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образец | Среднее (мМЕ/мл) | Внутритестовая точность | | Межтестовая точность | |
| С.О. (мМЕ/мл) | К.В.(%) | С.О. (мМЕ/мл) | К.В.(%) |
| Контроль очень низкого уровня | 4,71 | 0,167 | 3,5 | 0,185 | 3,9 |
| Контроль низкого уровня | 20,4 | 0,622 | 3,0 | 0,888 | 4,3 |
| Контроль среднего уровня | 188 | 4,12 | 2,2 | 6,79 | 3,6 |
| Контроль высокого уровня | 294 | 7,16 | 2,4 | 10,7 | 3,6 |

Пробы сыворотки

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образец | Среднее (мМЕ/мл) | Внутритестовая точность | | Межтестовая точность | |
| С.О. (мМЕ/мл) | К.В.(%) | С.О. (мМЕ/мл) | К.В.(%) |
| Контроль очень низкого уровня | 4,57 | 0,155 | 3,4 | 0,184 | 4,0 |
| Контроль низкого уровня | 20,1 | 0,508 | 2,5 | 0,668 | 3,3 |
| Контроль среднего уровня | 167 | 4,43 | 2,6 | 6,89 | 4,1 |
| Контроль высокого уровня | 262 | 6,56 | 2,5 | 10,0 | 3,8 |

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

1. Аналитическая чувствительность: < 0,2 мМЕ/мл.

Аналитическая чувствительность отражает самый низкий уровень, который может быть дифференцирован от нуля. Он подсчитывается как значение, находящееся на уровне двух стандартных отклонений выше уровня сыворотки, не содержащей ХГЧ.

1. Предел чувствительности: <1,0 мМЕ/мл.

Предел чувствительности – это самая низкая анализируемая концентрация, которая может быть воспроизводимо определена в пределах коэффициента вариации 10%.

1. Сверхдозовый хук-эффект/ Избыток антигена.

Не наблюдается до концентрации ХГЧ 2 000 000 мМЕ/мл.

1. Аналитическая специфичность.

Следующие вещества не проявляли перекрестной реактивности в анализе при указанных концентрациях.

ЛГ (1000 мМЕ/мл) не наблюдалось

ФСГ (1000 мМЕ / мл) не наблюдалось

ТТГ (1000 мкМЕ/ мл) не наблюдалось

Соматотропин (1000 нг/ мл) не наблюдалось

Пролактин (1000 нг/ мл) не наблюдалось

При концентрации выше, чем 10 000 нг/мл α-субъединица ХГЧ (ВОЗ 99/720) показывала перекрестную реактивность ниже 1%. Разбавитель для образца, обогащенный β-субъединицей ХГЧ (ВОЗ 75/551), давал указанные в таблице результаты.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| ВОЗ 75/551 (нг/мл) | ХГЧ, мМЕ/мл | ХГЧ, нг/мл \* | ХГЧ, нг/мл \*\* | Перекрестная реактивность |
| 0,50  1,00  2,50  5,00  10,0  25,0 | 8,47  18,6  47,2  104  202  545 | 0,91  2,00  5,09  11,2  21,7  58,7 | 0,55  1,21  3,08  6,76  13,1  35,5 | 110%  121%  123%  135%  131%  142% |

\*мМЕ ХГЧ/млх0,10769 → нг ХГЧ/мл

\*\*нг ХГЧ/млх0,627 → нг ХГЧ β-субъединица/мл

*Возможные взаимодействия*

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

Свободный билирубин 30 мг/дл

Связанный билирубин 30 мг/дл

Триглицериды, липемия проб 1000 мг/дл

Гемоглобин (при гемолизе) 400 мг/дл

Ревматоидный фактор 500 МЕ/мл

*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. Braunstein GD, Rasor J, Adler D, Danzer H, Wade ME. Serum human chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1976: 126: 678 - 81.
2. Brody S, Carlstrom G. Immunoassay of human chorionic gonadotropin in normal and pathologic pregnancy. J Clin Endocrinol Metab 1962: 22: 564 - 74.
3. Swaminathan N, Bahl OP. Dissociation and recombination of the subunits of human chorionic gonadotropin. Biochem Biophys Res Commun 1970: 40: 422 - 7.
4. Lab Report For Physicians. December 1985: 7: 92.
5. Braunstein GD, Karow WG, Gentry WC, Rasor J and Wade ME. First-trimester chorionic gonadotropin measurements as an aid in the diagnosis of early pregnancy disorders. Amer J Obstet Gynecol 1978: 131: 25 - 32.
6. Hussa RO. The clinical master HCG. New York: Praeger Publications. 1987.
7. Greene MF, de Montserrat MF, Tulchinsky D. In: Tietz NW, editor. Textbook of Clinical Chemistry.

***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 калибратора |
|  | Карта эталонной калибровки |

\* PATHFASTTM – LSI Medience Corporation.