Версия 2013.01

**Кат. № PF1031-K**

**Только для диагностики ин-витро**

**Тест-система для определения Креатинкиназы МВ PATHFAST**

**(PATHFAST™ CK-MB)**

**60 определений**

*Предназначение*

Тест-система для определения Креатинкиназы МВ (PATHFAST CK-MB) предназначена для ин-витро диагностики на анализаторе PATHFAST и служит для количественного определения концентрации креатинкиназы МВ в гепаринизированной цельной крови и плазме. Результат анализа используется для помощи в диагностике острого инфаркта миокарда (ОИМ).

*Описание*

Креатинкиназа (CK) является ключевым ферментом энергетического метаболизма в мышцах, катализирущим обратимую фосфориляцию креатина. У этого фермента есть две субъединицы, М и B, которые, связываясь, образуют три изофермента, CK-MB, CK-MM и CK-BB. CK-MM и CK-BB в основном присутствуют в скелетных мышцах и в мозге, соответственно. CK-MB, как известно, преобладает в сердечной мышце и составляет приблизительно 10-40% креатинкиназы миокарда. Повреждение миокарда приводит к преходящему прогрессирующему выделению CK-MB в кровь. Концентрация CK-MB начинает возрастать через 2,5-5 часов после начала боли в груди, с пиком на 12-24 часу и затем возвращающейся к нормальным уровням в течение 48-72 часов. Этот характерный временной график является диагностическим для ОИМ. Низкая концентрация CK-MB в сыворотке здоровых пациентов и в несердечных тканях способствует ее широкому использованию для диагностики и контроля повреждений миокарда.

Тест-система для определения Креатинкиназы МВ является анализом для измерения CK-MB 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 CK-МB в  MES\*\* буфере с  Натрия азидом | 50 мкл  < 0,1% | Кишечник теленка  Мышиные |
| №7 | Жидкая | MoAb\*к CK-MB 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 хлорид  Натрия азид | 50 мкл  0,9%  < 0,1% |  |
| № 3, 4, 5 | Жидкая | Промывочный буфер в составе:  MOPS-буфер с  Натрия азидом | 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 х 2,0 мл (жидкий)

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

4. Растворитель для калибраторов 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 PATHFAST и расходные материалы.

Креатинкиназа MB контроль – рекомендуется контрольный материал Bio-Rad Liquichek Cardiac Markers Plus Control LT, кат. №№ 146, 147 и148.

*Принцип анализа*

Процедура проведения анализа основана на методе хемилюминесцентного иммуноферментного анализа (CLEIA) с использованием технологии MAGTRATION®. В этой процедуре моноклональные антитела к CK-MB, связанные со щелочной фосфатазой и моноклональные антитела к CK-MB на магнитных частицах смешиваются с пробами гепаринизированной крови или плазмы. CK-MB пробы связывается с антителами к CK-MB, 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 СК-МВ 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 или ЭДТА.
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.
4. Плазму можно хранить при температуре -20оС. Размороженные пробы не замораживать повторно.

*Подготовка реагентов и проведение анализа*

*Подготовка реагентов:*

1. Картридж с реагентами

Готов к использованию.

1. Калибратор 1 (CAL-1)

Готов к использованию.

1. Калибратор 2 (CAL-2)

Восстановить калибратор 2 (CAL-2) при помощи добавления 1 мл (всего содержимого) растворителя для калибраторов из флакона. Восстановленный калибратор сохраняет стабильность в течение 3 дней при +2+8º С или 3 месяца при –20ºC.

ПРИМЕЧАНИЕ: При восстановлении калибратора CAL-2 используйте одинаковые лоты калибратора 2 и растворителя для калибраторов. Никогда не смешивайте разные лоты калибраторов 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 CK-MB.
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 проб используйте гепаринизированную или ЭДТА цельную кровь или плазму (натрия гепаринат, лития гепаринат, ЭДТА).
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 СК-МВ >500 нг/мл следует развести физраствором и протестировать повторно для получения точного результата. При этом необходимо учитывать коэффициент разведения. Если такая точность не нужна, можно представить результат как >500 нг/мл.

*Референтные уровни*

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 302 здоровых индивидах. Уровень составил 0,34-4,99 нг/мл СК-МВ в 95% доверительном интервале (в диапазоне от 2,5 до 97,5%).

*Специфические рабочие характеристики теста*

1. Диапазон результатов: 2-500 нг/мл.
2. Сравнение с другими методами (пробы плазмы)

y=1,72x – 0,47, r=0,997, n=87

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

1. Корреляция между результатами PATHFAST по цельной крови и плазме

y=0,98x + 0,15, r=0,998, n=95

(y – цельная кровь, x - плазма).

1. Стандартизация

Калибраторы для тест-системы для определения креатинкиназы МВ соотносятся с сертифицированным референтным материалом IRMM/IFCC-455 Института Референтных Материалов и Измерений (IRMM), Geel (Бельгия), относительно которого были установлены уровни для CK-MB по массе.

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 (нг/мл) | Внутритестовая точность | | Межтестовая точность | |
| С.О. (нг/мл) | К.В. (%) | С.О. (нг/мл) | К.В. (%) |
| Контроль низкого уровня | 4,57 | 0,248 | 5,4 | 0,380 | 8,3 |
| Контроль среднего уровня | 61,2 | 2,411 | 3,9 | 3,888 | 6,4 |
| Контроль высокого уровня | 359 | 11,39 | 3,2 | 24,54 | 6,8 |

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

1. Предел чувствительности: 2,0 нг/мл.

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

*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. Lang H, ed. Creatine kinase isoenzyme; pathophysiology and clinical application. Berlin: Springer-Verlag, 1981
2. Roberts R. Diagnostic assessment of myocardial infarction based on lactate dehydrogenase and creatine kinase isoenzymes. Heart Lung 1981; 10: 486-506
3. Galen RS and Gambino SR. Isoenzyme of CPK and LDH in myocardial infarction and certain other diseases. Pathobiol Annu 1975; 5: 283-315
4. Lott JA. Serum enzyme determination in the diagnosis of acute myocardial infarction: an update. Hum Pathol 1984; 15: 706-716

***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.