Версия 2013.01

**Кат. № PF1021-K**

**Только для диагностики ин-витро**

**Тест-система для определения Миоглобина PATHFAST**

**(PATHFAST™ Myo)**

**60 определений**

*Предназначение*

Тест-система для определения Миоглобина (PATHFAST Myo) предназначена для ин-витро диагностики на анализаторе PATHFAST и служит для количественного определения концентрации миоглобина в гепаринизированной цельной крови и плазме. Результат анализа используется для помощи в диагностике и особенно для исключения диагноза острого инфаркта миокарда (ОИМ).

*Описание*

Миоглобин (Myo) – низкомолекулярный гем-содержащий белок, обнаруживаемый в составе как сердечной мышцы, так и скелетных мышц. Миоглобин является одним из первых маркеров некроза миокарда, связанного с ОИМ, поднимающимся заметно выше нормального уровня в течение 1-3 часов после инфаркта, достигающим максимума к 6-12 часам и возвращающимся к исходному уровню в течение 24-36 часов1-3. В отсутствие травмы скелетных мышц или других ситуаций, связанных с внесердечным повышением концентрации миоглобина (например, почечная недостаточность), измерение уровня миоглобина в крови может быть использовано в качестве раннего маркера ОИМ. В нескольких исследованиях было доказано, что измерение миоглобина может быть использовано в качестве быстрого и чувствительного теста для ранней диагностики ОИМ в сочетании с ЭКГ и для исключения инфаркта миокарда у пациентов с острой болью в груди, особенно в случае дальнейших негативных результатов теста спустя один час после первого.4,5

Тест-система для определения Миоглобина является анализом для количественного измерения миоглобина 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.).

Картридж с реагентами состоит из 16 лунок. Все лунки кроме лунки для пробы (№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 миоглобину в  MES\*\* Буфере с  Натрия азидом | 50 мкл  < 0,1% | Кишечник теленка  Мышиные |
| №7 | Жидкая | MoAb\*к миоглобину 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 с  Натрия хлоридом  Натрия азидом | 50 мкл  0,9%  < 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- 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) 1 флакон x 2,0 мл (жидкий)

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

5. Инструкция 1 штука

*Необходимые материалы и оборудование*

Анализатор PATHFASTTM и расходные материалы.

Миоглобин 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 миоглобину, связанные со щелочной фосфатазой и моноклональные антитела к миоглобину на магнитных частицах смешиваются с пробами гепаринизированной крови или плазмы. Миоглобин пробы связывается с антителами к миоглобину, 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 миоглобина 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 хранить при температуре -20оС. Размороженные пробы не замораживать повторно.

*Подготовка реагентов и проведение анализа*

*Подготовка реагентов:*

1. Картридж с реагентами

Готов к использованию.

1. Калибраторы

Готовы к использованию.

*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 миоглобина.
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 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 миоглобина >1000 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 >1000 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 308 здоровых индивидах.
3. Уровень миоглобина составил 8,95-48,8 нг/мл в 95% доверительном интервале (в диапазоне от 2,5 до 97,5%).

*Специфические рабочие характеристики теста*

1. Диапазон результатов: 5-1000 нг/мл.
2. Сравнение с другими методами (пробы плазмы)

y=0,68x + 0,81, r=0,992, n=126

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

1. Корреляция между результатами PATHFAST по цельной крови и плазме

y=1,00x – 2,82, r=0,992, n=88

1. Стандартизация

Калибраторы для миоглобина соотносятся с препаратом чистого (>98%) миоглобина из тканей сердечной мышцы человека (кат. № 8M50), поставляемым компанией Hytest Ltd, г.Турку (Финляндия).

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 | 23,0 | 0,679 | 3,0 | 0,983 | 4,3 |
| Контроль среднего уровня | 69,1 | 1,964 | 2,8 | 2,647 | 3,8 |
| Контроль высокого уровня | 468 | 6,355 | 1,4 | 11,43 | 2,4 |

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

1. Предел чувствительности: 5,0 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 36 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. Vaidya H. Myoglobin. Lab Med 1992; 23: 304-10
2. Bhayana V, Henderson A. Biochemical markers of myocardial damage. Clin Biochemi 1995; 28: 1-29
3. Rozenman Y, Gotsman M, The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. Ann Rev Med. 1994; 45: 31-44
4. Ellis A, Little T, Zaki Masud AR, Klocke FJ. Pattern of myoglobin release after reperfusion of injured myocardium. Circulation 1985; 72: 639-47.
5. Chapelle JP, Albert A, Smeets JP, et al. Serum myoglobin determination in the assessment of acute myocardial infarction. Eur. Heart J, 1982; 3: 122-9

***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 |
| |  | | --- | |  | | Карта эталонной калибровки |

\* PATHFASTTM – LSI Medience Corporation.