Версия 2013.01

**Кат. № PF1011-K**

**Только для диагностики ин-витро**

**Тест-система для определения высокочувствительного Тропонина I PATHFAST**

**(PATHFAST™ cTnI)**

**60 определений**

*Предназначение*

Реагент для определения высокочувствительного Тропонина I PATHFAST (PATHFAST cTnI) является иммунологическим тестом для in vitro количественного определения концентрации сердечного тропонина I (сTnI) в человеческой цельной крови и плазме с антикоагулянтами на анализаторе PATHFAST. PATHFAST cTnI может использоваться для помощи в диагностике острого инфаркта миокарда (ОИМ) и для стратификации риска смертности пациентов с острым коронарным синдромом.

*Описание*

Сердечный тропонин I (cTnI) вместе с тропонином T (TnT) и тропонином С (TnC) формирует тропониновый комплекс, который играет основную роль в передаче внутриклеточного кальциевого сигнала при взаимодействии актина и миозина (1). cTnI является сердечным мышечным белком с молекулярной массой 22500 дальтон, который локализуется исключительно в миокарде и отличается от TnI из скелетных мышц (2). cTnI – кардиоспецифичный и чувствительный маркер повреждения сердечной мышцы. Он быстро высвобождается в кровь после начала ОИМ и остается повышенным в течение нескольких дней после этого (3). В отличие от инфаркта миокарда с подъемом ST-сегмента (STEMI) диагностика инфаркта миокарда без подъема ST-сегмента (NSTEMI) в основном основана на уровне сердечного тропонина (4, 5). Согласно Универсальному определению инфаркта миокарда STEMI или NSTEMI диагностируются, если концентрация cTn превышает 99-ый процентиль верхнего референтного уровня (upper reference limit, или URL) при симптомах ишемии миокарда. При этом требуемая точность определения – не выше 10% коэффициента вариации результатов для 99-й процентили. Согласно новым рекомендациям по диагностике и лечению острых коронарных синдромов без подъема ST-сегмента сердечный тропонин является предпочтительным маркером повреждения миокарда (6). cTnI – независимый прогностический маркер, предсказывающий исход у пациентов с острыми коронарными синдромами (7-9). кроме того, клинические исследования показали, что cTnI полезен для выявления пациентов, которые поддаются терапии GPIIb/IIIa ингибиторов (10). cTnI в низких концентрациях полезен для оценки рисков у пациентов со стабильной стенокардией (11).

*Принцип анализа*

Анализ основан на принципе хемилюминесцентного иммунологического анализа (CLEIA) с использованием технологии MAGTRATION®\*. Меченые щелочной фосфатазой анти-cTnI моноклональные антитела и анти-cTnI моноклональные антитела, покрывающие магнитные частицы смешиваются с пробой. cTnI пробы связывается с антителами к cTnI, образуя иммунный комплекс с мечеными ферментом антителами и антителами на магнитных частицах. После удаления несвязавшихся меченных ферментом антител добавляется хемилюминесцентный субстрат. Интенсивность измеренной люминесценции зависит от концентрации сTnI в пробе. Концентрация cTnI рассчитывается по стандартной калибровочной кривой. Концентрация cTnI может быть определена на анализаторе PATHFAST в течение 17 мин.

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

*Содержимое упаковки*

1. Картриджи с реагентами: 6 картриджей х 10 упаковок.

Каждый картридж с реагентами состоит из 16 лунок, содержащих все необходимые для проведения анализа компоненты. Все лунки, кроме лунки для пробы (№1) и счетной лунки (№10), запечатаны алюминиевой фольгой со штрих-кодом с полной информацией, необходимой для корректного проведения тестирования.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Лунка | Форма | Ингридиенты | Кол-во | Источник |
| №2 | Жидкая | Щелочная фосфатаза,  конъюгированная с анти-cTnI MoAb\* в  MЕS\*\* буфере  Натрия азид | 50 мкл  < 0,1% | Кишечник теленка  Мышь |
| №7 | Жидкая | анти-cTnI MoAb\*  на магнитных частицах | 50 мкл | Мышь |
| №13 | Жидкая | Хемилюминесцентный субстрат CDP-Star® | 100 мкл |  |
| №11 | Жидкая | Буфер для разведения проб:  Трис-буфер  Натрия азид | 50 мкл  < 0,1% |  |
| № 3, 4, 5 | Жидкая | Промывочный буфер:  MOPS буфер  Натрия азид | 400 мкл  < 0,1% |  |

\*MoAb - моноклональные антитела

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

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

CDP-Star® - зарегистрированная торговая марка Applied Biosystems

Калибраторы

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

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

3. Растворитель для калибратора 1,0 мл х 2 флакона (жидкий)

Карта эталонной калибровки (MC Entry Card) 1 штука

Инструкция 1 штука

Паспорт контрольных значений 1 штука

*Необходимые, но не поставляемые материалы и оборудование*

Анализатор PATHFASTTM и расходные материалы

Контрольный материал для cTnI

*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 упавшими или 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 азидсодержащих 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 вскрывать картриджи до непосредственного использования.

*Срок хранения*

Срок хранения указан на картридже, упаковке картриджей и общей 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 пробы следует убедиться, что плазма не содержит фибриновых нитей или сгустков и других нерастворимых частиц, в противном случае эти частицы необходимо удалить центрифугированием или фильтрацией.
4. Пробы плазмы можно хранить при -20ºС и ниже до момента тестирования. Размороженные пробы не замораживать повторно.

*Стабильность проб* (12-14)

ЭДТА и гепариновая плазма

1. при +15ºС - +25ºС: 6 часов

2. при +2ºС - +8ºС: 8 часов

3. при -20ºС: 3 недели (однократная заморозка)

*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 каждый флакон с калибратором 2 (CAL-2) при помощи одного флакона растворителя для калибратора. Восстановленные калибраторы сохраняют стабильность в течение 3 дней при +2+8º С или 3 месяца при –20º C.

Примечание:

Используйте только одинаковые лоты калибратора 2 и растворителя для калибратора. Никогда не смешивайте разные лоты CAL-2 и растворителя для калибратора.

*Установка эталонной калибровочной кривой*

1. Установка эталонной калибровочной кривой проводится каждый раз при начале использования нового лота реагентов.
2. Установка эталонной калибровочной кривой производится путем считывания штрих-кода с карты эталонной калибровки, вложенной в упаковку, с помощью ручного сканера штрих-кодов анализатора PATHFAST. Подробности смотрите в руководстве пользователя для анализатора PATHFAST.

*Пользовательская калибровка*

1. Проведение пользовательской калибровки необходимо каждый раз при начале использования нового лота реагентов после установки эталонной 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. Оба калибратора CAL-1 и CAL-2 должны быть протестированы в дублях. Следовательно, для проведения калибровки требуются 4 картриджа, два для CAL-1 и два для CAL-2.
4. Установите реагентные картриджи в кассету для картриджей на приборе, потом внесите примерно по 100 мкл CAL-1 и CAL-2 в лунки для проб, запустите прибор PATHFAST в режиме калибровки и нажмите кнопку START.
5. Проведите калибровку согласно пользовательскому руководству к прибору PATHFAST.

*Контроль качества*

1. Для контроля качества используйте коммерческие контрольные материалы с аттестованными для реагента «PATHFAST cTnI» целевыми значениями. Контроль качества должен проводиться после каждой калибровки для того, чтобы проверить калибровочную кривую. В дальнейшем нужно выполнять контроль качества для различных диапазонов концентрации для гарантии точности результатов. Таким образом, необходимо проводить контроль качества на двух разных уровнях контрольных материалов.
2. Правила GLP (Надлежащей лабораторной практики) рекомендуют использование соответствующего контроля качества. Рекомендуется соблюдать положения федеральных, областных и местных правил контроля качества. Если результаты контроля не соответствуют ожидаемым, не используйте результаты тестов. Повторите тест или обратитесь к вашему авторизованному дистрибьютору PATHFAST для технической поддержки.

*Процедура анализа*

1. В качестве пробы должна использоваться гепаринизированная или ЭДТА цельная кровь или плазма.
2. Установите картридж с реагентами в кассету для картриджей, внесите примерно 100 мкл пробы в лунку для проб на картридже, поместите кассету в прибор PATHFAST и нажмите кнопку START.
3. Проведите тестирование согласно пользовательскому руководству для прибора PATHFAST.

Примечания:

1. При использовании цельной крови ввод значения гематокрита является дополнительной опцией в приборе. Процедура описана в пользовательском руководстве для прибора PATHFAST.
2. Пробы с концентрацией сTnI >50 нг/мл следует развести разбавителем для проб или физраствором и протестировать повторно, если необходим точный результат.

*Ожидаемые уровни*

Оценка верхнего референтного уровня cTnI проводилась согласно процедуре (12) на пробах плазмы (литий-гепарин) от 119 здоровых индивидов, у которых сердечно-сосудистые заболевания были исключены при магнитно-резонансной томографии сердца, в том числе с добутаминовым стресс-тестом. Пробы плазмы были измерены трижды с помощью реагента PATHFAST cTnI и все полученные результаты были ниже 0,020 нг/мл (см. на графике профиль прецизионности). Этот результат утверждает верхний референтный предел (99-я процентиль) для cTnI в 0,020 нг/мл. Самая низкая концентрация с CV ≤ 10% (LoQ) для реагента PATHFAST cTnI была 0,0031 нг/мл (см. на графике профиль прецизионности в соответствии с NCCLS).



Первичный результат ниже 99-ой процентили в первые часы после появления симптомов не исключает инфаркта миокарда. Необходимо повторить тестирование на пробах, взятых через определенные промежутки времени (6-12 час) после первого анализа (7).

*Специфические рабочие характеристики*

1. Диапазон результатов: 0,001-50 нг/мл.
2. Сравнение с другими методами (пробы плазмы)

y=0,37x – 0,007, r=0,975, n=80

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

1. Корреляция между результатами PATHFAST по цельной крови и плазме

y=1,00x + 0,01, r=0,999, n=91

(y – цельная кровь, x – плазма)

1. Стандартизация

Калибраторы для реагента PATHFAST cTnI соотносятся с сертифицированным референтным материалом сердечного тропонинового комплекса человека SRM2921 Национального Института Стандартов и Технологии (NIST, США) с сертифицированной концентрацией сердечного тропонина I человека.

1. Прецизионность

Воспроизводимость определялась на 3 контрольных пробах, тестируемых в дублях в течение 20 случайных дней. Внутритестовые и общие стандартные отклонения рассчитывались по протоколу NCCLS EP-5A. Были получены следующие результаты.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Проба | Среднее (нг/мл) | Внутритестовая точность | | Общая точность | |
| SD (нг/мл) | CV (%) | SD (нг/мл) | CV (%) |
| Контроль низкого уровня | 0,09 | 0,003 | 3,7 | 0,004 | 3,9 |
| Контроль среднего уровня | 2,22 | 0.062 | 2,8 | 0,068 | 3,1 |
| Контроль высокого уровня | 9,57 | 0.306 | 3,2 | 0,353 | 3,7 |

SD – стандартное отклонение, CV – коэффициент вариации.

1. Прецизионность при низких концентрациях

Для определения прецизионности для низких концентраций объединенный пул плазмы разводили бестропониновой литий-гепариновой пробой плазмы. Были взяты аликвоты пяти проб с концентрациями тропонина от 0,02 нг/мл до 0 нг/мл и измерены согласно протоколу NCCLS (Института клинических и лабораторных стандартов).

1. Аналитическая чувствительность: 0,001 нг/мл.



Предел определения определялся как самая низкая отличная от нуля концентрация и рассчитывался как 3 стандартных отклонения от среднего значения 20 измерений (в одном цикле) нулевого калибратора.

Средняя (SD) концентрация cTnI нулевого калибратора в 20 измерениях на PATHFAST составила 0,0001 (0,0003) нг/мл и аналитическая чувствительность, рассчитанная как 3 SD добавленных к среднему значению 20 измерений нулевого калибратора, составила 0,001 нг/мл.

*Возможные влияния*

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 образца 1000 мг/дл

Гемоглобин (при гемолизе) 1000 мг/дл

Ревматоидный фактор 500 МЕ/мл

*Ограничения*

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 для последующего отчета. См. руговодство пользователя для прибора PATHFAST.
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. Perry SV. The regulation of contractile activity in muscle. Biochem Soc Trans 1979; 7:593-617
2. Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. Am Heart J. 1987; 113:1334-44
3. Larue C, Calzolari C, Bertinchant JP, Leclercq F, Grolleau R, Pau B. Cardiac-specific immunoenzymometric assay of troponin I in the early phase of acute myocardial infarction. Clinical Chemistry 1993; 39; 972-79
4. Alpert JS, Thygesen K, Jaffe A, White HD. The universal definition of myocardial infarction: a consensus document: ischemic heart disease. Heart 2008;94:1335:1341.
5. Christenson RH, Duh SH, Newby LK, Ohman EM et al. Cardiac troponin T and troponin I: relative values in short-term risk stratification of patients with acute coronary syndromes. Clin Chem 1998;44:494-501.
6. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined - a Consensus Document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. J Am Coll Cardiol 2000;36:959–69. Eur Heart J 2000;21:1502-13.
7. Thygesen K, Alpert JS, White HD; Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. Eur Heart J. 2007;28:2525-38.
8. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndromes of the European Society of Cardiology. Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-elevation acute coronary syndromes. Eur Heart J 2007;28:1598-1660.
9. Thygesen K, Alpert JS, White HD on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for Redefinition of Myocardial Infarction. JACC 207;50:2173-2195.
10. Heeschen C, Hamm CW, Goldmann BU et al. for the PRISM study investigators. Troponin concentrations for stratification of patients with acute coronary syndromes in relation to therapeutics efficacy of tirofiban. Lancet 1999;354:1757-1762.
11. Allen J, Kleiman NS, Nassif D, Hsieh W et a. Prevalence and prognostic significance of preprocedural cardiac troponin elevation among patients with stable coronary artery disease undergoing percutaneous coronary intervention. Circulation 2008;118:632-638.
12. Apple FS: High-sensitivty cardiac troponin assays: what analytical and clinical issues need to be addressed before introduction into clinical practice? Clin Chem 2010;56:886-891.
13. Peetz D, Hafner G, Prellwitz W. Analytical evaluation of an immunoassay for quantitative determination of cTnI. J Lab Med 2000;24:243-249.
14. Peake RWA, Deans KA, Croal BL. A practical assessment of the short-term in vitro stability of troponin I at the 99th percentile. Ann Clin Biochem 2011;48:377-379.
15. Cobbaert CM et al. Time-dependent instability of cardiac troponin in human plasma spiked with NIST reference material 2921.

*Символы*

|  |  |
| --- | --- |
|  | Европейский сертификат |
|  | Для диагностики in vitro |
|  | Номер лота |
|  | Каталожный номер продукта |
|  | Производитель |
|  | Уполномоченный представитель |
|  | Содержимого достаточно для |
|  | Температурные пределы |
|  | Срок хранения |
|  | Обратите внимание на справочную документацию |
|  | Следуйте инструкции |
|  | Калибратор 1 |
|  | Калибратор 2 |
|  | Разбавитель для калибратора |
|  | Картридж с реагентами |
|  | Карта эталонной калибровки |

\* PATHFASTTM – LSI Medience Corporation.