Версия 2013.01

**Кат. № PF1071-K**

**Только для диагностики ин-витро**

**Тест-система для определения высокочувствительного СРБ PATHFAST**

**(PATHFAST™ hsCRP)**

**60 определений**

*Предназначение*

Тест-система для определения высокочувствительного СРБ (PATHFAST hsCRP) предназначена для ин-витро диагностики на анализаторе PATHFAST и служит для количественного определения концентраций С-реактивного белка, в том числе низких (высокочувствительного СРБ), в гепаринизированной и ЭДТА цельной крови или плазме и сыворотке.

*Описание*

C-реактивный белок (СРБ) – белок острой фазы, β-глобулин с молекулярной массой около 118,000 дальтон. Это консервативный белок, состоящий из пяти идентичных циклических глобулярных субъединиц, классифицирующийся как член пентраксинового надсемейства белков

Поскольку повышенные значения СРБ всегда связаны с патологическими изменениями, анализ СРБ предоставляет полезную информацию для диагностики, лечения и мониторинга воспалительных заболеваний и связанных с ними заболеваний.1-4

Тест-система для определения высокочувствительного СРБ является анализом для измерения СРБ, в том числе низких концентраций, 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 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 СРБ в  MES\*\* Буфере | 50 мкл | Микробная  Мышиные |
| №7 | Жидкая | MoAb\*к СРБ 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:  MOPS Буфер | 25 мкл |  |
| №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)

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.

Высокочувствительный СРБ 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 СРБ, связанные со щелочной фосфатазой и моноклональные антитела к СРБ на магнитных частицах смешиваются с пробой. CРБ пробы связывается с антителами к CРБ, 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 СРБ 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 сыворотку, цельную кровь или плазму, собранные стандартной процедурой в пробирки с натрия гепаринатом, лития гепаринатом или Na2-ЭДТА и 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). Немедленно после внесения пробы нужно загрузить картридж в прибор и начать тестирование.
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. Сыворотку и плазму можно хранить при температуре -20оС и ниже. 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.

3. Калибратор 2 (CAL-2)

Готов 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 CРБ.
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 сыворотку, гепаринизированную или ЭДТА цельную кровь или плазму (натрия гепаринат, лития гепаринат, Na2-ЭДТА и K2-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. Если тестируется цельная кровь, непосредственно перед внесением пробы в лунку на картридже следует осторожно смешать кровь в пробирке (не использовать вихревой смеситель вортекс). Немедленно после внесения пробы нужно загрузить картридж в прибор и начать тестирование.
2. Если пробы начинают тестироваться после более чем 5-минутной выдержки после внесения в лунку для проб, может быть получен заниженный результат из-за осаждения крови и завышенный результат в плазме 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 СРБ >30 мг/л следует развести физраствором и протестировать повторно для получения точного результата. При этом необходимо учитывать коэффициент разведения. Если такая точность не нужна, можно указать результат как >30 мг/л.

*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 в 97,5% процентили в пробах гепаринизированной плазмы у 192 здоровых индивидов (72 мужчины и 120 женщин в возрасте 16-68 лет). Средний уровень составил 3,35 мг/л.

*Специфические рабочие характеристики теста*

1. Диапазон результатов: 0,05-30 мг/л.
2. Сравнение с другими методами (пробы плазмы)

Гепаринизированная плазма: y=1,02x + 0,058; r=0,991, n=110

(y - данный метод, x - Dade Behring BN II N High Sensitivity CRP, n – количество испытаний).

ЭДТА плазма: y=1,01x + 0,079; r=0,993, n=100

(y - данный метод, x - Dade Behring BN II N High Sensitivity CRP, n – количество испытаний).

1. Корреляция между результатами PATHFAST по цельной крови и ЭДТА плазме

y=1,05x + 0,008, r=0,997, n=41

(y – цельная кровь, x - плазма)

1. Прослеживаемость

Калибраторы для тест-системы соотносятся с референтным материалом для высокочувствительного СРБ IRMM•CRM 470.

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 CLSI EP-5A2. Были получены следующие результаты.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образец | Среднее (мг/л) | Внутритестовая точность | | Межтестовая точность | |
| С.О. (мг/л) | К.В. (%) | С.О. (мг/л) | К.В. (%) |
| Контроль низкого уровня | 0,540 | 0,020 | 3,7 | 0,022 | 4,1 |
| Контроль среднего уровня | 1,76 | 0,066 | 3,8 | 0,095 | 5,4 |
| Контроль высокого уровня | 5,54 | 0,192 | 3,5 | 0,307 | 5,6 |

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

1. Предел чувствительности: 0,05 мг/л.

*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. Dixon JS, Bird HA, Sitton NG, et al. C-reactive protein in the serial assessment of disease activity in rheumatoid arthritis. Scand J Rheumatol 1984;13:39-44.
2. Kushner DL,Rzewricki DL. The acute phase response :general aspects. Bailliere’s Clin Rheumatol 1994;8:513-30.
3. van Leeuwen MA, van Rijswijk MH. Acute phase proteins in the monitoring of inflammatory disorders. Bailliere’s Clin Rheumatol 1994;8:531-52.
4. Pulliam PN, Attia MW, Cronan KM. Undetectable serious bacterial infection C-reactive protein in febrile children 1 to 36 months of age with clinically undetectable serious bacterial infection. Pediatrics 2001; 108:1275-9

***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.