



Назначение

Автоматизированный усовершенствованный латексный метод иммуноанализа. Предназначен для количественного определения общего L-гомоцистеина в человеческой цитратной плазме на коагулометрах IL.

ПРИМЕЧАНИЕ: В образцах пациентов, находящихся на лекарственной терапии, включающей S-аденозил-метионин, уровень гомоцистеина может быть ложно завышенным. Пациенты, принимающие метотрексат, карбамазепин, фенитоин, закись азота, противосудорожные средства или 6-азуридин триацетат, могут иметь повышенный уровень гомоцистеина, в силу влияния этих веществ на пути метаболизма. Прочтите информацию в разделе "Ограничения/интерферирующие вещества" этой инструкции.

Краткое описание и принцип

Гомоцистеин (Hcy) представляет собой сульфгидрильную аминокислоту, образующуюся при внутриклеточном деметилировании метионина. Большая часть Hcy циркулирует в плазме крови в окисленной форме в связанном с белками (в основном с альбумином) виде. Также присутствуют небольшие количества восстановленного гомоцистеина и дисульфидные димеры Hcy (гомоцистин). Суммарно все виды Hcy, присутствующие в плазме, образуют общий Hcy (tHcy).

Под действием ряда ферментов, кофакторов и субстратов Hcy метаболизирует либо в цистеин, либо в метионин. Повышение уровня Hcy в крови (гипергомоцистеинемия) может произойти при ослаблении этих реакций.

Серьезно повышенные концентрации Hcy обнаруживаются у людей с гомоцистинурией, редким генетическим расстройством, являющимся причиной врожденного слабоумия, раннего атеросклероза и артериальной и/или венозной тромбоэмболии. Также обнаружены менее тяжелые генетические дефекты, приводящие к умеренному повышению уровня Hcy. Гипергомоцистеинемия, даже умеренная, является установленным фактором риска венозной и/или артериальной тромбоэмболии. Повышенный уровень Hcy может быть вторично приобретенным в результате других заболеваний, таких как анемия и/или астения и хроническое заболевание почек.

Уровень Hcy в плазме пациентов определяется на коагулометрах IL автоматическим в три стадии:

1. Восстановление смеси дисульфидной и белок-связанной форм Hcy, находящихся в образце плазмы, до свободного Hcy.
2. Ферментативное превращение свободного Hcy в S-аденозил-L-гомоцистеин (SAH) с помощью SAH-гидролазы (SAHH) в присутствии избытка аденозина.
3. Реакция конкурентной агглютинации между анти-SAH и SAH / конъюгатом.

Стадия восстановления

R1-SS-Hcy $\xrightarrow{\text{восстановитель}}$ Hcy
(R1- сульфгидрильная группа)

Ферментативная стадия
SAHH



Степень агглютинации обратно пропорциональна концентрации tHcy в образце и определяется по уменьшению светопропускания, вызванного образованием агрегатов. Полученные результаты определения гомоцистеина (Hcy) могут помочь в лечении пациентов с подозрением на гипергомоцистеинемию или гомоцистинурию.

Состав набора

- Набор **Hcy** включает:
- B** **Буфер** (Кат. № 0020007810): 2 флакона x 9 мл фосфатного (PBS) буфера с консервантами.
 - Rd** **Восстановитель** (Кат. № 0020007820): 2 флакона x 2 мл раствора аденозина и трис(2-карбоксиметил)фосфина (TCPP) в бис-трис-буфере с консервантами.
 - E** **Фермент** (Кат. № 0020007830): 2 флакона x 2 мл раствора рекомбинантной S-аденозил-L-гомоцистеин гидролазы (SAHH) в фосфатном буфере со стабилизатором и консервантом.
 - Cn** **Конъюгат** (Кат. № 0020007840): 2 флакона x 2,5 мл раствора конъюгата в фосфатном (PBS) буфере со стабилизатором и консервантом.
 - LR** **a-SAH латексный реагент** (Кат. № 0020007850): 2 флакона x 2 мл лиофилизированной суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых анти-S-аденозил-L-гомоцистеин (SAH) моноклональными антителами, в буфере с добавлением БСА и 0,02% Bronidox™ в качестве консерванта
 - C** **Калибратор** (Кат. № 0020007860): 2 флакона x 1 мл S-аденозил-L-гомоцистеина (SAH) в фосфатном (PBS) буфере с консервантами.

Меры предосторожности
Буфер, конъюгат и калибратор содержат азид натрия в концентрации менее 0,1%, который способен образовывать взрывоопасные соединения при контакте с металлическими частями трубопровода. Придерживайтесь установленных правил утилизации. Избегайте попадания на кожу и в глаза (S4/25). Не сливать в канализацию; утилизировать материал и тару безопасным способом (S 29/35). Надеть соответствующую защитную одежду, перчатки и средства защиты глаз/лица (S 36/37/39).

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Подготовка

a-SAH латексный реагент: Разведите содержимое флакона в 2 мл воды (международный стандарт CLSI (ранее NCCLS) тип CLRW или аналогичной). Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что реагент разведен полностью. Выдержите раствор 30 минут при

температуре 15 - 25°C, перед использованием аккуратно перемешайте. Не встряхивайте.

Остальные реагенты и калибратор: Перед использованием перемешайте, переворачивая. Реагенты и калибратор готовы к использованию.

ПРИМЕЧАНИЕ: Реагенты разных лотов не взаимозаменяемы.

Стабильность реагентов и хранение

Невыскранные реагенты при хранении в холодильнике при 2-8°C стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке флакона.

a-SAH латексный реагент: Стабилен после разведения: 2 месяца при 2-8°C в оригинальном флаконе, 8 часов при 15°C на борту коагулометров IL. Не подлежит замораживанию.

Остальные реагенты – Открытые реагенты стабильны 2 месяца при температуре 2-8°C в оригинальном флаконе, 8 часов при 15°C на борту коагулометров IL. Не подлежат замораживанию.

Для сохранения стабильности реагентов вынимайте их из прибора и храните в оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.

Методика исследования/работа с инструментом

Обратитесь к соответствующим инструкциям «Руководства по эксплуатации прибора» и/или «Руководства по применению методов».

Сбор и подготовка образцов

Девять частей свежей венозной крови смешивают в пробирке с одной частью цитрата натрия.

Примечание: после забора крови и до отделения плазмы уровень tHcy повышается в зависимости от времени и температуры хранения. В течение 1 часа этому процессу можно воспрепятствовать, центрифугировав 10 минут при 1000 x g и отделив плазму от клеток, или до центрифугирования охладив образцы крови на льду (до 8 часов) После отделения эритроцитов уровень tHcy остается стабильным в плазме не менее 3 дней при температуре 2-8°C или 3 месяца при -20°C. Было обнаружено, что образцы могут пройти цикл замораживания-размораживания до трех раз без какого-либо значительного влияния на результат анализа. После размораживания образцы необходимо перемешать до гомогенного состояния.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть заказаны отдельно:

	Аmericи, Тихоокеанский регион и Европа
	Кат. №
Контроли гомоцистеина	0020007900
Очищающий раствор	0009831700

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать контроли двух уровней. Для контроля качества разработаны контроли гомоцистеина. Каждая лаборатория должна

установить свои собственные среднее значение и стандартное отклонение и создать программу контроля качества для мониторинга лабораторного тестирования. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами лабораторных исследований. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы, следуйте правилам Вестгарда (Westgard et al).

Метрологическая прослеживаемость калибровочного и контрольного материалов

Указанные значения калибратора Нсу были получены путем многократных измерений на коагулометрах IL с использованием специфических лотов реагентов и относительно внутреннего стандарта-калибратора Нсу определенного лота. Поскольку международный стандарт Нсу в настоящее время не установлен, лот внутреннего стандарта-калибратора Нсу был приготовлен при разбавлении специальным буфером концентрированного маточного раствора S-аденозил-L-гомоцистеина (SAH) в фосфатном буфере. Калибратор Нсу, при использовании его для калибровки Нсу метода на коагулометрах IL в соответствии с рекомендациями IL, демонстрирует коммутативность с образцами пациентов.

Результаты

Результаты определения Нсу выражаются в мкмоль/мл. За дополнительной информацией обратитесь к "Руководству по эксплуатации прибора". При постановке диагноза вместе с результатами анализа следует учитывать и другой информации, в т.ч. клиническую картину.

Ограничения/интерферирующие вещества

Образцы пациентов, которые принимали мышинные моноклональные антитела для диагностики или лечения, могут содержать человеческие анти-мышинные антитела (НАМА). НАМА, присутствующие в образцах сыворотки или плазмы, могут оказывать влияние на иммуноанализ, использующий моноклональные мышинные антитела. Такие образцы анализу на Нсу не подлежат. На результаты определения Нсу на коагулометрах IL не оказывает влияния гемоглобин до 490 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 1325 мг/дл, ревматоидный фактор до 480 МЕ/мл и фторид натрия до 4,0 г/л. **Важное замечание:** Следующие лекарства: метотрексат, карбамазепин, фенитоин, закись азота и 6-азауридин, могут повышать уровень Нсу. Механизмы действия этих лекарственных препаратов направлены на различные стадии пути метаболизма Нсу.

Аналитическая специфичность

Для перечисленных ниже соединений, чья химическая структура или конкурентное действие может влиять на результаты анализа Нсу, не обнаружена перекрестная реактивность до следующих концентраций:

Соединение	Проанализированная концентрация	% перекрестной реактивности
S-аденозил-L-метионин	0.5 ммоль/л	2.6%
L-цистеин	5 ммоль/л	0.0%
Аденозин	1 ммоль/л	0.2%
L-цистатионин	2 ммоль/л	0.1%
L-метионин	0.4 ммоль/л	-0.2%
DL-гомоцистеин-тиолактон	0.1 ммоль/л	4.7%
Глютатион	100 ммоль/л	0.0%

Ожидаемые значения

Определение диапазона нормальных значений выполнено с использованием набора для определения гомоцистеина.

Для определения показанных ниже нормальных диапазонов было проанализировано 136 образцов практически здоровых доноров банка крови, расположенного в Испании.

Прибор	N	tНсу
ACL TOP	136	4,3 – 11,1 мкмоль/л
ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	136	4,0 – 11,2 мкмоль/л
ACL Futura/ACL Advance	136	4,1 – 10,6 мкмоль/л

Дополнительно изучение диапазона нормальных значений было выполнено в США, где одновременно было проанализировано 125 образцов практически здоровых людей:

ACL TOP	125	3,9 – 9,3 мкмоль/л
---------	-----	--------------------

Примечание: концентрация Нсу в плазме здоровых людей может зависеть от возраста, пола, географического местоположения и генетических факторов. В научной литературе есть сообщения о том, что у мужчин уровень Нсу выше, чем у женщин, и у женщин после менопаузы уровень выше, чем у женщин до менопаузы. Во время беременности наблюдается значительное снижение уровня Нсу. Значения Нсу значительно ниже. Пониженные уровни Нсу могут наблюдаться в странах, где действует программа обогащения пищевых продуктов фолиевой кислотой.

В цитратной плазме результаты анализа Нсу оказываются приблизительно на 14,6% ниже, чем в ЭДТА и гепаринизированной плазме, из-за ее разбавления раствором антикоагулянта.

Диапазоны были рассчитаны в соответствии с рекомендацией Международной федерации клинической химии (IFCC).

Результаты получены с использованием специфического лота реагентов. В силу наличия множества факторов, влияющих на результат, каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон нормальных значений.

Характеристики метода

Воспроизводимость: Воспроизводимость внутрисерийная и общая (в разных сериях в разные дни) оценивалась на основании многократных измерений.

	Среднее (Ед/мл)	CV% (серии)	(внутри CV% (общий)
ACL TOP			
Нсу контроль, уровень1	11.4	2.0	4.8
Нсу контроль, уровень2	22.4	1.5	3.5
Образец плазмы пациента	8.1	2.9	5.5
ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	Среднее (Ед/мл)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Нсу контроль, уровень1	12.3	2.3	5.1
Нсу контроль, уровень2	22.8	4.3	6.2
Образец плазмы пациента	8.4	2.6	5.9
ACL Futura/ACL Advance	Среднее (Ед/мл)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Нсу контроль, уровень1	10.5	3.5	6.0
Нсу контроль, уровень2	21.1	2.6	3.5
Образец плазмы пациента	7.9	3.5	5.6

Корреляция

Прибор	наклон	пересечение	r	Сравниваемый метод
ACL TOP	0.9780	0.2943	0.989	HemosIL Нсу на ACL 9000
ACL Futura / ACL Advance	0.9459	0.0149	0.989	HemosIL Нсу на ACL 9000
ACL ELITE /ELITE PRO /8/9/10000	0.8292	0.3503	0.992	Поляризационный флуоресцентный иммуноанализ Нсу

***ПРИМЕЧАНИЕ:** В исследовании использовались пары образцов с добавленным натрий цитратом (IL Нсу метод) и добавленным ЭДТА (метод сравнения) Исследование воспроизводимости и корреляционный анализ проводились с использованием определенных лотов реагентов и контролей.

Предел обнаружения

Предел обнаружения установлен на основании 20-кратного измерения буфера, входящего в состав набора на разных инструментальных платформах с использованием 2 разных лотов реагента. За предел обнаружения было принято наибольшее из полученных значение (среднее + 3SD).

Прибор	
Коагулометры IL	2,4 мкмоль/л

Линейность

Прибор	Обычный тест	Повторный тест
Коагулометры IL	4,5 – 30 мкмоль/л	9 – 60 мкмоль/л

Тест без эффекта прозоны до 600 мкмоль/л на коагулометрах IL. Приборы с возможностью повторного анализа автоматически выполняют разведение образца 1:2 и пересчет результат с учетом коэффициента разведения, расширяя, таким образом, диапазон исследования до 60 мкмоль/л. Если после этого результат все равно выходит за пределы расширенного диапазона, т.е. значение превышает 60 мкмоль/л, образец следует развести вручную входящим в набор Нсу

буфером 1:10 (50 мкл образца + 450 мкл Нсу буфера) и повторно выполнить стандартный анализ. Результат необходимо умножить на 10, чтобы учесть разведение.

Примечание: Калибровочное значение Нсу калибратора указано в самом конце инструкции на последней странице после списка литературы.

Д-ДИМЕР HemosIL – 0020008500

Назначение

Автоматический высокочувствительный иммуноанализ, усиленный латексными частицами, для количественного определения Д-Димера в человеческой цитратной плазме на коагулометрах Семейства ACL TOP, использующийся в сочетании с оценкой клинической вероятности для исключения венозной тромбоэмболии (ВТЭ) у амбулаторных больных с подозрением на тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболию легочной артерии (ТЭЛА).

Краткое описание и принцип

Д-Димеры входят в состав растворимых продуктов деградации фибрина, поперечно сшитого фактором XIIIa.¹ Плазмин, сериновая протеаза, в отсутствие ингибиторов расщепляет нерастворимый поперечно-сшитый фибрин, образуя ряд растворимых производных. Их молекулярный вес зависит от степени расщепления. Эти растворимые продукты деградации фибрина содержат неоантиген (Д-Димер домен), который отсутствует в исходной молекуле фибриногена, продуктах его деградации или в растворимом фибрине.^{2,3} Определение Д-Димера становится широко распространенным инструментом для диагностики тромбозов и мониторинга тромболитической терапии.⁴

Повышенные уровни Д-Димера наблюдаются при таких клинических случаях, как тромбоз глубоких вен (ТГВ), тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС).⁵ Уровень Д-Димера также повышается при нормально протекающей беременности, однако очень высокий уровень ассоциирован с ее осложнениями.⁶

Было показано, что отрицательный результат теста на Д-Димер в сочетании с низкой клинической вероятностью имеет высокую отрицательную прогностическую значимость в диагностике ТГВ и ТЭЛА.⁷⁻¹⁵

Латексный реагент в наборе Д-Димер представляет собой суспензию полистироловых латексных частиц одинакового размера, покрытых моноклональными антителами, высоко специфичными к Д-Димер домену, входящему в состав молекул растворимых производных фибрина. Когда плазму, содержащую Д-Димер, смешивают с латексным реагентом и буфером, входящим в состав набора, латексные частицы агглютинируют. Степень агглютинации прямо пропорциональна концентрации Д-Димера в образце и определяется по уменьшению светопропускания в реакционной смеси на длине волны 405 нм, вызванного образованием агрегатов (турбидиметрический иммуноанализ).¹⁶

Состав набора

Набор Д-Димер состоит из:

Р Латексный реагент (кат. № 0020008520): 4 флакона х 3 мл лиофилизированной суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых мышиными моноклональными антителами (МА- 8D3) против Д-Димера, содержащей буфер, бычий сывороточный альбумин (БСА), стабилизаторы и консервант.

В Реакционный буфер (кат. № 0020008521): 4 флакона х 9 мл фосфатного буфера с добавлением БСА, стабилизаторов и консерванта.

С Д-Димер калибратор (кат. № 0020008522): 2 флакона х 1 мл лиофилизированного раствора частично очищенного от человеческого фибрина Д-Димера, расщепленного человеческим плазмином, с добавлением БСА, буфера, стабилизаторов и консерванта.

Меры предосторожности и предупреждения

Материал для производства данного набора был протестирован на отсутствие поверхностного антигена к Гепатитам В (HBsAg), Anti-HCV и антител к ВИЧ 1/2. Обращайтесь как с потенциально инфицированным.¹⁷

Все реагенты содержат менее 0,1% азиды натрия, который может образовывать взрывоопасные азиды на металлических частях лабораторной сантехники. Используйте надлежащие процедуры утилизации.

Латексный реагент:



ОПАСНО

Класс опасности: Токсичен для репродуктивной системы, Категория 1B.

Характеристики опасности: Может повреждать фертильность и наносить вред плоду.

Меры предосторожности: Ознакомьтесь со специальными инструкциями перед использованием. Не используйте реагент до тех пор, пока все меры предосторожности не будут изучены и поняты. Надевайте защитные перчатки / защитную одежду / защиту для глаз и лица. При контакте с веществом: обратитесь за медицинской помощью. Храните в закрытом виде. Утилизируйте упаковку и содержимое согласно действующим локальным / региональным / национальным / международным стандартам.

Дополнительная информация об опасности: EUN210: Паспорт безопасности предоставляется по запросу.

До 8,2% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Реакционный буфер, Д-Димер калибратор

Класс опасности: отсутствует

Характеристики опасности: отсутствуют

Меры предосторожности: отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

Реакционный буфер:

До 4,1% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Д-Димер Калибратор:

До 5,8% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Набор предназначен только для *in vitro* диагностики.

Приготовление

Латексный реагент:

Растворите содержимое каждого флакона в 3 мл дистиллированной воды (международный стандарт CLSI (ранее NCCLS) тип CLRW или эквивалент)¹⁸. Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что содержимое растворилось полностью. Выдержите реагент 30 минут при температуре 15 - 25°C и аккуратно перемешайте перед использованием, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Реакционный буфер: Аккуратно перемешайте перед использованием, переворачивая флакон. Реагент готов к использованию. Не встряхивайте.

Д-Димер калибратор:

Растворите содержимое каждого флакона в 1 мл дистиллированной воды (международный стандарт CLSI (ранее NCCLS) тип CLRW или эквивалент)¹⁸. Закройте крышкой и аккуратно перемешайте.

HemosIL

Убедитесь, что содержимое растворилось полностью. Выдержите реагент 30 минут при температуре 15 - 25°C и аккуратно перемешайте перед использованием, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Примечание: не допускайте образования пены при гомогенизировании реагентов и калибратора. Пузыри на поверхности жидкости могут искажать показания жидкостных датчиков прибора.

Хранение и стабильность реагентов

Невскрытый реагент стабилен до истечения срока годности, указанного на флаконе, при температуре 2-8°C.

Латексный реагент: стабильность после приготовления: 1 месяц при температуре 2-8°C в оригинальном флаконе, 1 день при 15°C на борту анализаторов ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000, 6 часов при 15°C на борту анализаторов ACL 6000/7000 или 2 дня при 15°C на борту анализаторов Семейства ACL TOP. Не замораживать.

Реакционный буфер: открытый реагент стабилен 1 месяц при 2-8°C в оригинальном флаконе, 1 день при 15-25°C на борту анализаторов ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000, 6 часов при 15-25°C на борту анализаторов ACL 6000/7000 или 2 дня при 15°C на борту анализаторов Семейства ACL TOP.

Пожалуйста, обратите внимание: латексный реагент и Реакционный буфер имеют одинаковые характеристики стабильности и должны использоваться в паре на анализаторах Семейства ACL TOP. Если один из реагентов заменяется, второй компонент (т.е., Латексный реагент или Реакционный буфер) также должен быть заменен независимо от его остаточного количества во флаконе.

Д-Димер калибратор: стабильность после приготовления: 3 дня при температуре 15-25 °C, 1 месяц при 2-8 °C или 2 месяца при -20 °C в оригинальном флаконе. Замороженный калибратор должен быть разморожен при 37°C и аккуратно перемешан перед использованием. Не допускайте повторного замораживания.

Для оптимальной стабильности изымайте реагенты из анализаторов и храните при температуре 2-8°C в оригинальных флаконах.

Низкая относительная влажность ассоциирована с усиленным испарением реагентов из открытых флаконов, что может привести к снижению их стабильности на борту. Для оптимальной стабильности реагентов на борту следует контролировать температуру и влажность в помещении лаборатории.

Методика исследования/работа с инструментом

Обратитесь к соответствующим инструкциям «Руководства по эксплуатации прибора».

Сбор и подготовка образцов

Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата. Обратитесь к документу CLSI H21-A5 для получения инструкций по сбору и хранению образцов.¹⁹

Замороженные образцы следует быстро разморозить при 37°C и отцентрифугировать перед исследованием. Анализ образцов должен быть проведен в течение 2 часов после разморозки.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

	Америки и Тихоокеанский рубеж. Кат. №	Европа Кат. №
Контроли Д-Димера	0020008610	0020008610 или 0020013000
Разбавитель факторов	0009757600	0009757600

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать нормальный и патологический контроли.²⁰ Для контроля качества разработаны Низкий и Высокий Контроли Д-Димера. Каждая лаборатория должна определить собственные значения среднего и стандартного отклонения, и разработать программу контроля для мониторинга качества выполнения лабораторных исследований. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы, следуйте правилам Вестгарда (Westgard et al).²¹

Прослеживаемость значений калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были получены при многократных измерениях на Коагулометрических Системах IL с использованием определенных лотов реагентов и внутреннего стандарта.

Поскольку международный стандарт Д-Димера не определен, был установлен внутренний стандарт в соответствии с критерием гармонизации, предложенным W. Neiuwenhuizen.^{22,23}

Результаты

Результаты Д-Димера выражаются в нг/мл. Эти единицы соответствуют нг/мл Д-Димерных единиц (D-DU). Обратитесь к Руководству пользователя анализатора для получения дополнительной информации.

Примечание: в силу отсутствия Международного Референсного Стандарта некоторые производители выражают результат определения Д-Димера в FEU (Fibrinogen Equivalent Unit – Фибриноген Эквивалентная Единица). Соотношение между этими двумя единицами измерения ориентировочно следующее: 2 нг/мл FEU ~ 1 нг/мл D-DU.²⁴

Ограничения/интерферирующие вещества

На результаты определения Д-Димера на анализаторах ACL не влияют гемоглобин – до 50 мг/дл, билирубин – до 5 мг/дл, триглицериды – до 1000 мг/дл и Ревматоидный фактор до 60 МЕ/мл.

На результаты определения Д-Димера на анализаторах Семейства ACL TOP не влияют гемоглобин – до 100 мг/дл, билирубин – до 10 мг/дл, триглицериды – до 1500 мг/дл. Присутствие ревматоидного фактора может привести к завышению результатов.

Моноклональные антитела (MA-8D3), используемые при производстве Латексного реагента Д-Димер, обладают максимальной чувствительностью к Д-Димер домену на поперечно сшитых продуктах деградации фибрина. Низкая перекрестная реактивность с продуктами деградации фибрина была обнаружена в образцах, содержащих очищенные Д- и Е-фрагменты в концентрации более 20 мкг/мл.

i Присутствие человеческих антимышиных антител (НАМА) может привести к завышению уровня Д-Димера.

Ожидаемые значения

Определение диапазона нормальных значений было проведено на 30 образцах здоровых взрослых доноров крови с использованием нескольких лотов реагентов и калибратора: общее число определений составило 240 (8 раз по 30) для каждого прибора:

Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (единицы)
Анализаторы ACL	240	255 нг/мл
В отдельном исследовании с использованием 231 индивидуального образца крови доноров были		

получены следующие результаты:		
Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (единицы)
Семейство ACL TOP	231	232 нг/мл

В силу наличия множества факторов, способных повлиять на результат (в том числе, возраст популяции)^{25,27}, каждая лаборатория должна установить собственный диапазон нормальных значений. При постановке диагноза результаты данного исследования должны быть рассмотрены вместе с другой информацией, включая клинический контекст.

Рабочие характеристики

Воспроизводимость:

Общая и внутрисерийная воспроизводимость (в разных сериях и в разные дни) оценивались на основании многократных измерений.

Анализаторы ACL	Среднее (нг/мл)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Д-Димер, пул плазмы	246	4,5	11,7
Низкий контроль Д-Димера	310	6,01	7,18
Высокий контроль Д-Димера	732	2,42	2,99
Д-Димер калибратор	1055	1,31	2,23
Семейство ACL TOP	Среднее (нг/мл)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Д-Димер, пул плазмы	282	6,8	9,0
Низкий контроль Д-Димера	340	4,6	7,7
Высокий контроль Д-Димера	729	2,5	4,5

Корреляция:²³

Система	наклон	пересечение	r	Референсный метод
Семейство ACL TOP	0,95	-50,3	0,973	HemosIL Д-Димер на анализаторе Семейства ACL TOP

Было проведено дополнительное клиническое исследование сравнения результатов, полученных с помощью данного набора и коммерчески доступного набора D-Dimer EIA на 67 пациентах (10 нормальных, 38 пациентов с ДВС, 9 – с ТГВ и 10 – с различными заболеваниями). Коэффициент корреляции r на анализаторе ACL (n = 67) составил 0.958. Во всех образцах пациентов с диагностированными ДВС или ТГВ были обнаружены повышенные уровни Д-Димера.

Также было проведено исследование исходов пациентов, поступивших в реанимационное отделение с подозрением на ТГВ или ТЭТА (частота тромбозмболических заболеваний: 26%), на 300 замороженных образцах. У 78 из 300 пациентов диагноз тромботического события был подтвержден стандартными объективными тестами (47 пациентов с ТЭЛА, 31 – с ТГВ), у остальных 222 пациентов диагноз не подтвердился.

Результаты приведены ниже и основаны на пороговом значении, равном 230 нг/мл:

Система	N	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Отрицательная прогностическая значимость (95% ДИ)
ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	297	100% (95.2% - 100.0%)	38% (31.4% - 44.6%)	100% (95.7% - 100%)
Семейство ACL TOP	294	100% (95.1% - 100.0%)	36% (29.6% - 42.6%)	100% (95.4% - 100%)

Клинические характеристики амбулаторных пациентов с подозрением на тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) с использованием набора Д-Димер в совокупности со шкалой предтестовой клинической вероятности для исключения венозной тромбоэмболии (ВТЭ).

Было проведено мультицентровое исследование на базе четырех больниц на образцах пациентов, поступивших в отделение реанимации с подозрением на ТГВ или ТЭЛА, на анализаторах ACL TOP (632 образца) и ACL Elite (629 образцов). 302 пациента, обследованных с помощью ACL TOP, и 298 – с помощью ACL Elite, поступили с подозрением на ТГВ; 330 пациентов, обследованных с помощью ACL TOP, и 331 – с помощью ACL Elite, поступили с подозрением на ТЭЛА. Как часть исследования, пациенты подверглись оценке предтестовой вероятности (ПТВ) с использованием шкалы Веллса (Wells model) и были разделены на три группы: с высокой, умеренно и низкой вероятностью ТГВ или ТЭЛА. Пациенты, имеющие отрицательный результат в тесте на Д-Димер и низкую вероятность ВТЭ по шкале Веллса, не подвергались дальнейшему обследованию, и за их состоянием наблюдали в течение последующих 3 месяцев. В группе пациентов с отрицательным результатом теста на Д-Димер и умеренным риском по шкале Веллса решение о проведении визуализирующего обследования или о наблюдении в течение последующих 3 месяцев принимал лечащий врач. Пациенты с положительным результатом теста на Д-Димер или с высоким риском по шкале Веллса подвергались визуализирующему обследованию.

Был зафиксирован один случай, когда пациент со средним риском по шкале Веллса и отрицательным результатом теста на Д-Димер, проведенном на ACL Elite, имел подтвержденный с помощью визуализирующего исследования диагноз ТЭЛА. Этот же образец при анализе на ACL TOP получил положительный результат в тесте на Д-Димер.

Общая частота встречаемости ТГВ в популяции образцов, обследованных с помощью ACL TOP, составила 19.5% (59/302), а для образцов, обследованных с помощью ACL Elite – 20.5% (61/298). Общая частота встречаемости ТЭЛА в популяции образцов, обследованных с помощью ACL TOP, составила 15.2% (50/330), а для образцов, обследованных с помощью ACL Elite – 15.1% (50/331).

Данные по определению чувствительности, специфичности и отрицательной прогностической значимости (ОПЗ) теста Д-Димер на анализаторах ACL TOP и ACL Elite, соответствующие 95% доверительному интервалу, были получены при использовании порогового значения, равного 230 нг/мл.

Результаты определения воспроизводимости и корреляции были получены при использовании определенных лотов реагентов и контрольных материалов.

Пределы определения

Система	
Семейство ACL	140 нг/мл
Семейство ACL TOP	69 нг/мл

Линейность

Система	
Семейства ACL и ACL TOP	200 – 1050 нг/мл

Метод не имеет эффекта прозоны до концентраций 20000 нг/мл на анализаторах Семейства ACL и до 100000 нг/мл – на анализаторах Семейства ACL TOP.

Образцы, для которых результат определения Д-Димера выше 1050 нг/мл, должны быть разведены в соотношении 1:5 с помощью Разбавителя факторов (50 мкл образца + 200 мкл Разбавителя факторов)

и подвергнуты повторному тестированию. Если результат вновь превысит 1050 нг/мл, процедура должна быть выполнена повторно (коэффициент разведения составит 1:25 или 1:125). Полученные результаты следует умножить на 5, 25 или 125 (в зависимости от количества проведенных разведений) для учета фактора разведения.

Анализаторы с функцией автоматического повтора проводят разведение 1:5 на борту и автоматически корректируют результат, что позволяет расширить диапазон линейности до 5250 нг/мл. При получении результатов, превышающих 5250 нг/мл образец следует вручную развести с помощью Разбавителя факторов в соотношении 1:25 или 1:125, и провести тестирование повторно, а затем скорректировать полученный результат с учетом фактора разведения.

Д-ДИМЕР 500 HEMOSIL – 0020301000

Назначение

Автоматический иммуноанализ, усиленный латексными частицами, для количественного определения Д-Димера в человеческой цитратной плазме на коагулометрах Семейства ACL TOP, использующийся в сочетании с оценкой клинической вероятности для исключения венозной тромбоэмболии (ВТЭ) у амбулаторных больных с подозрением на тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболию легочной артерии (ТЭЛА).

Краткое описание и принцип

Д-Димеры входят в состав растворимых продуктов деградации фибрина, поперечно сшитого фактором XIIIa.¹ Плазмин, сериновая протеаза, в отсутствие ингибиторов расщепляет нерастворимый поперечно-сшитый фибрин, образуя ряд растворимых производных. Их молекулярный вес зависит от степени расщепления. Эти растворимые продукты деградации фибрина содержат неоантиген (Д-Димер домен), который отсутствует в исходной молекуле фибриногена, продуктах его деградации или в растворимом фибрине.^{2,3} Определение Д-Димера становится широко распространенным инструментом для диагностики тромбозов и мониторинга тромболитической терапии.⁴

Повышенные уровни Д-Димера наблюдаются при таких клинических случаях, как тромбоз глубоких вен (ТГВ), тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС).⁵ Уровень Д-Димера также повышается при нормально протекающей беременности, однако очень высокий уровень ассоциирован с ее осложнениями.⁶

Было показано, что отрицательный результат теста на Д-Димер в сочетании с низкой клинической вероятностью имеет высокую отрицательную прогностическую значимость в диагностике ТГВ и ТЭЛА.⁷⁻¹⁵

Латексный реагент в наборе Д-Димер 500 представляет собой суспензию полистироловых латексных частиц одинакового размера, покрытых моноклональными антителами, высоко специфичными к Д-Димер домену, входящему в состав молекул растворимых производных фибрина. Когда плазму, содержащую Д-Димер, смешивают с латексным реагентом и буфером, входящим в состав набора, латексные частицы агглютинируют. Степень агглютинации прямо пропорциональна концентрации Д-Димера в образце и определяется по уменьшению светопропускания в реакционной смеси на длине волны 405 нм, вызванного образованием агрегатов (турбидиметрический иммуноанализ).¹⁶

Состав набора

Набор **Д-Димер 500** состоит из:

Р Латексный реагент (кат. № 0020301010): 4 флакона х 3 мл лиофилизированной суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых мышиными моноклональными антителами (МА- 8D3) против Д-Димера, содержащей буфер, бычий сывороточный альбумин (БСА), стабилизаторы и консервант.

В Реакционный буфер (кат. № 0020301020): 4 флакона х 9 мл фосфатного буфера с добавлением БСА, стабилизаторов и консерванта.

С Д-Димер калибратор (кат. № 0020301030): 2 флакона х 1 мл лиофилизированного раствора частично очищенного от человеческого фибрина Д-Димера, расщепленного человеческим плазмином, с добавлением БСА, буфера, стабилизаторов и консерванта.

Меры предосторожности и предупреждения

Материал для производства данного набора был протестирован на отсутствие поверхностного антигена к Гепатитам В (HBsAg), Anti-HCV и антител к ВИЧ 1/2. Обращайтесь как с потенциально инфицированным.¹⁷

Все реагенты содержат менее 0,1% азиды натрия, который может образовывать взрывоопасные азиды на металлических частях лабораторной сантехники. Используйте надлежащие процедуры утилизации.

Латексный реагент:



ОПАСНО

Класс опасности: Токсичен для репродуктивной системы, Категория 1B.

Характеристики опасности: Может повреждать фертильность и наносить вред плоду.

Меры предосторожности: Ознакомьтесь со специальными инструкциями перед использованием. Не используйте реагент до тех пор, пока все меры предосторожности не будут изучены и поняты. Надевайте защитные перчатки / защитную одежду / защиту для глаз и лица. При контакте с веществом: обратитесь за медицинской помощью. Храните в закрытом виде. Утилизируйте упаковку и содержимое согласно действующим локальным / региональным / национальным / международным стандартам.

Дополнительная информация об опасности: До 8,25% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Реакционный буфер, Д-Димер калибратор:

Класс опасности: отсутствует

Характеристики опасности: отсутствуют

Меры предосторожности: отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

Реакционный буфер:

До 4,1% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Д-Димер Калибратор:

До 5,8% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Набор предназначен только для *in vitro* диагностики.

Приготовление

Латексный реагент:

Растворите содержимое каждого флакона в 3 мл дистиллированной воды (международный стандарт CLSI (ранее NCCLS) тип CLRW или эквивалент)¹⁸. Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что содержимое растворилось полностью. Выдержите реагент 30 минут при температуре 15 - 25°C и аккуратно перемешайте перед использованием, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Реакционный буфер: Аккуратно перемешайте перед использованием, переворачивая флакон. Реагент готов к использованию. Не встряхивайте.

Д-Димер калибратор:

Растворите содержимое каждого флакона в 1 мл дистиллированной воды (международный стандарт CLSI (ранее NCCLS) тип CLRW или эквивалент)¹⁸. Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что содержимое растворилось полностью. Выдержите реагент 30 минут при температуре 15 - 25°C и аккуратно перемешайте перед использованием, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Примечание: Не допускайте образования пены при гомогенизировании реагентов и калибратора. Пузыри на поверхности жидкости могут искажать показания жидкостных датчиков прибора.

Хранение и стабильность реагентов

Невскрытый реагент стабилен до истечения срока годности, указанного на флаконе, при температуре 2-8°C.

Латексный реагент: Стабильность после приготовления: 1 месяц при температуре 2-8°C в оригинальном флаконе, 1 день при 15°C на борту анализаторов ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000, 6 часов при 15°C на борту анализаторов ACL 6000/7000 или 2 дня при 15°C на борту анализаторов Семейства ACL TOP. Не замораживать.

Реакционный буфер: Открытый реагент стабилен 1 месяц при 2-8°C в оригинальном флаконе, 1 день при 15-25°C на борту анализаторов ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000, 6 часов при 15-25°C на борту анализаторов ACL 6000/7000 или 2 дня при 15°C на борту анализаторов Семейства ACL TOP. **Пожалуйста, обратите внимание:** Латексный реагент и Реакционный буфер имеют одинаковые характеристики стабильности и должны использоваться в паре на анализаторах Семейства ACL TOP. Если один из реагентов заменяется, второй компонент (т.е., Латексный реагент или Реакционный буфер) также должен быть заменен независимо от его остаточного количества во флаконе.

Д-Димер калибратор: Стабильность после приготовления: 3 дня при температуре 15-25 °C, 1 месяц при 2-8 °C или 2 месяца при -20 °C в оригинальном флаконе. Замороженный калибратор должен быть разморожен при 37°C и аккуратно перемешан перед использованием. Не допускайте повторного замораживания.

Для оптимальной стабильности изымайте реагенты из анализаторов и храните при температуре 2-8°C в оригинальных флаконах.

Низкая относительная влажность ассоциирована с усиленным испарением реагентов из открытых флаконов, что может привести к снижению их стабильности на борту. Для оптимальной стабильности реагентов на борту следует контролировать температуру и влажность в помещении лаборатории.

Методика исследования/работа с инструментом

Обратитесь к соответствующим инструкциям «Руководства по эксплуатации прибора».

Реагент предназначен для использования на анализаторах ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000 и анализаторах Семейства ACL TOP/

Сбор и подготовка образцов

Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринадцатой цитрата. Обратитесь к документу CLSI H21-A5 для получения инструкций по сбору и хранению образцов.¹⁹

Замороженные образцы следует быстро разморозить при 37°C и отцентрифугировать перед исследованием. Анализ образцов должен быть проведен в течение 2 часов после разморозки.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

	Америки и Тихоокеанский рубеж. Кат. №	Европа Кат. №
Контроли Д-Димера	0020008610	0020008610
Разбавитель факторов	0009757600	0009757600

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать нормальный и патологический контроли.²⁰ Для контроля качества разработаны Низкий и Высокий Контроли Д-Димера. Каждая лаборатория должна определить собственные значения среднего и стандартного отклонения, и разработать программу контроля для мониторинга качества выполнения лабораторных исследований. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы, следуйте правилам Вестгарда (Westgard et al).²¹

Прослеживаемость значений калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были получены при многократных измерениях на Коагулометрических Системах IL с использованием определенных лотов реагентов и внутреннего стандарта.

Поскольку международный стандарт Д-Димера не определен, был установлен внутренний стандарт в соответствии с критерием гармонизации, предложенным W. Neiuwenhuizen.^{22,23} и P.Meijer²⁴.

Результаты

Результаты Д-Димера 500 выражаются в нг/мл. Эти единицы соответствуют нг/мл FEU (Fibrinogen Equivalent Unit – Фибриноген Эквивалентная Единица). Обратитесь к Руководству пользователя для получения дополнительной информации.

Ограничения/интерферирующие вещества

На результаты определения Д-Димера на анализаторах ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000 не влияют гемоглобин – до 50 мг/дл, билирубин – до 5 мг/дл, триглицериды – до 1000 мг/дл и Ревматоидный фактор до 60 МЕ/мл.

На результаты определения Д-Димера на анализаторах Семейства ACL TOP не влияют гемоглобин – до 100 мг/дл, билирубин – до 10 мг/дл, триглицериды – до 1500 мг/дл. Присутствие ревматоидного фактора может привести к завышению результатов.

Моноклональные антитела (МА-8D3), используемые при производстве Латексного реагента Д-Димер, обладают максимальной чувствительностью к Д-Димер домену на поперечно сшитых продуктах деградации фибрина. Низкая перекрестная реактивность с продуктами деградации фибрина была обнаружена в образцах, содержащих очищенные Д- и Е-фрагменты в концентрации более 20 мкг/мл.

Присутствие человеческих антимышиных антител (НАМА) может привести к завышению уровня Д-Димера.

Ожидаемые значения

Определение диапазона нормальных значений было проведено на 30 образцах здоровых взрослых доноров крови с использованием нескольких лотов реагентов набора Д-Димер 500 и калибратора: общее число определений составило 240 (8 раз по 30) для каждого прибора:

Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (единицы)
Анализаторы ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	240	554 нг/мл
В отдельном исследовании с использованием 231 индивидуального образца крови доноров были получены следующие результаты:		
Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (единицы)
Семейство ACL TOP	231	504 нг/мл

В силу наличия множества факторов, способных повлиять на результат (в том числе, возраст популяции)^{25,27}, каждая лаборатория должна установить собственный диапазон нормальных значений.

При постановке диагноза результаты данного исследования должны быть рассмотрены вместе с другой информацией, включая клинический контекст.

Рабочие характеристики

Воспроизводимость:

Общая и внутрисерийная воспроизводимость (в разных сериях и в разные дни) оценивались на основании многократных измерений.

Анализаторы ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	Среднее (нг/мл)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Д-Димер, пул плазмы	535	4.5	11.7
Низкий контроль Д-Димера	674	6.01	7.18
Высокий контроль Д-Димера	1591	2.42	2.99
Семейство ACL TOP	Среднее (нг/мл)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Д-Димер, пул плазмы	613	6.8	9.0
Низкий контроль Д-Димера	739	4.6	7.7
Высокий контроль Д-Димера	1585	2.5	4.5

Корреляция:²³

Система	наклон	пересечение	r	Референсный метод
ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	2.73	520.2	0.998	Д-Димер EIA
Семейство ACL TOP	1.12	-34.8	0.994	Д-Димер 500 на ACL Advance

Было проведено дополнительное клиническое исследование сравнения результатов, полученных с помощью данного набора и коммерчески доступного набора D-Dimer EIA на 67 пациентах (10 нормальных, 38 пациентов с ДВС, 9 – с ТГВ и 10 – с различными заболеваниями). Коэффициент корреляции r на анализаторе ACL ($n = 67$) составил 0.958. Во всех образцах пациентов с диагностированными ДВС или ТГВ были обнаружены повышенные уровни Д-Димера.

Также было проведено исследование исходов пациентов, поступивших в реанимационное отделение с подозрением на ТГВ или ТЭЛА (частота тромбозмболических заболеваний: 26%), на 300 замороженных образцах. У 78 из 300 пациентов диагноз тромботического события был подтвержден стандартными объективными тестами (47 пациентов с ТЭЛА, 31 – с ТГВ), у остальных 222 пациентов диагноз не подтвердился. Образцы, при тестировании которых были получены ошибочные результаты, в расчеты не включались.

Результаты приведены ниже и основаны на пороговом значении, равном 500 нг/мл:

Система	N	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Отрицательная прогностическая значимость

					(95% ДИ)
ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	297	100% (95.2% - 100.0%)	38% (31.4% - 44.6%)	100% (95.7% - 100%)	
Семейство ACL TOP	294	100% (95.1% - 100.0%)	36% (29.6% - 42.6%)	100% (95.4% - 100%)	

Клинические характеристики амбулаторных пациентов с подозрением на тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) с использованием набора Д-Димер 500 в совокупности со шкалой предтестовой клинической вероятности для исключения венозной тромбоэмболии (ВТЭ).

Было проведено мультицентровое исследование на базе четырех больниц на образцах пациентов, поступивших в отделение реанимации с подозрением на ТГВ или ТЭЛА, на анализаторах ACL TOP (632 образца) и ACL Elite (629 образцов). 302 пациента, обследованных с помощью ACL TOP, и 298 – с помощью ACL Elite, поступили с подозрением на ТГВ; 330 пациентов, обследованных с помощью ACL TOP, и 331 – с помощью ACL Elite, поступили с подозрением на ТЭЛА. Как часть исследования, пациенты подверглись оценке предтестовой вероятности (ПТВ) с использованием шкалы Веллса (Wells model) и были разделены на три группы: с высокой, умеренно и низкой вероятностью ТГВ или ТЭЛА. Пациенты, имеющие отрицательный результат в тесте на Д-Димер и низкую вероятность ВТЭ по шкале Веллса, не подвергались дальнейшему обследованию, и за их состоянием наблюдали в течение последующих 3 месяцев. В группе пациентов с отрицательным результатом теста на Д-Димер и умеренным риском по шкале Веллса решение о проведении визуализирующего обследования или о наблюдении в течение последующих 3 месяцев принимал лечащий врач. Пациенты с положительным результатом теста на Д-Димер или с высоким риском по шкале Веллса подвергались визуализирующему обследованию.

Был зафиксирован один случай, когда пациент со средним риском по шкале Веллса и отрицательным результатом теста на Д-Димер, проведенном на ACL Elite, имел подтвержденный с помощью визуализирующего исследования диагноз ТЭЛА. Этот же образец при анализе на ACL TOP получил положительный результат в тесте на Д-Димер.

Общая частота встречаемости ТГВ в популяции образцов, обследованных с помощью ACL TOP, составила 19.5% (59/302), а для образцов, обследованных с помощью ACL Elite – 20.5% (61/298). Общая частота встречаемости ТЭЛА в популяции образцов, обследованных с помощью ACL TOP, составила 15.2% (50/330), а для образцов, обследованных с помощью ACL Elite – 15.1% (50/331).

Данные по определению чувствительности, специфичности и отрицательной прогностической значимости (ОПЗ) теста Д-Димер 500 на анализаторах ACL TOP и ACL Elite, соответствующие 95% доверительному интервалу, были получены при использовании порогового значения, равного 500 нг/мл.

Результаты определения воспроизводимости и корреляции были получены при использовании определенных лотов реагентов и контрольных материалов.

Пределы определения

Система	
ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	304 нг/мл
Семейство ACL TOP	150 нг/мл

Линейность

Система	Автоматический повтор выключен	Автоматический повтор включен
ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	435 – 2280 нг/мл	435 – 11400 нг/мл
Семейство ACL TOP	435 – 2280 нг/мл	435 - 11400 нг/мл

Когда функция автоматического повтора анализа включена, прибор проводит разведение образца на борту и корректирует итоговый результат с учетом фактора разведения, что позволяет расширить диапазон линейности до 11400 нг/мл. Если результат все еще выходит за пределы расширенного диапазона линейности, т.е. если он составляет более 11400 нг/мл, тогда образец следует вручную развести в соотношении 1:25 или 1:125 с помощью Разбавителя факторов и повторно провести анализ в стандартном режиме. Результат затем следует умножить на 25 или 125 для учета разведения.

Метод не имеет эффекта прозоны до концентраций 43000 нг/мл ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000 и до 215000 нг/мл на анализаторах Семейства ACL TOP.

Д-ДИМЕР ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ HEMOSIL – 0020007700

Назначение

Д-Димер высокочувствительный – это автоматический иммуноанализ, усиленный латексными частицами, для количественного определения Д-Димера в человеческой цитратной плазме на коагулометрах Семейства ACL TOP, использующийся в сочетании с оценкой клинической вероятности для исключения венозной тромбоэмболии (ВТЭ) у амбулаторных больных с подозрением на тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболию легочной артерии (ТЭЛА).

Краткое описание и принцип

Д-Димеры входят в состав растворимых продуктов деградации фибрина, поперечно сшитого фактором XIIIa.¹ Плазмин, сериновая протеаза, в отсутствие ингибиторов расщепляет нерастворимый поперечно-сшитый фибрин, образуя ряд растворимых производных. Их молекулярный вес зависит от степени расщепления. Эти растворимые продукты деградации фибрина содержат неоантиген (Д-Димер домен), который отсутствует в исходной молекуле фибриногена, продуктах его деградации или в растворимом фибрине.^{2,3} Определение Д-Димера становится широко распространенным инструментом для диагностики тромбозов и мониторинга тромболитической терапии.⁴

Повышенные уровни Д-Димера наблюдаются при таких клинических случаях, как тромбоз глубоких вен (ТГВ), тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС)⁵. Уровень Д-Димера также повышается при нормально протекающей беременности, однако очень высокий уровень ассоциирован с ее осложнениями.⁶

Было показано, что отрицательный результат теста на Д-Димер в сочетании с низкой клинической вероятностью имеет высокую отрицательную прогностическую значимость в диагностике ТГВ и ТЭЛА.⁷⁻¹³

Латексный реагент в наборе Д-Димер высокочувствительный представляет собой суспензию полистироловых латексных частиц одинакового размера, покрытых F(ab')₂ фрагментами моноклональных антител, высоко специфичных к Д-Димер домену, входящему в состав молекул растворимых производных фибрина. Использование F(ab')₂ фрагментов позволяет более специфично определять Д-Димер, исключая влияние таких эндогенных факторов, как ревматоидный фактор. Когда плазму, содержащую Д-Димер, смешивают с латексным реагентом и буфером, входящим в состав набора, латексные частицы агглютинируют. Степень агглютинации прямо пропорциональна концентрации Д-Димера в образце и определяется по уменьшению светопропускания в реакционной смеси, вызванного образованием агрегатов (турбидиметрический иммуноанализ).

Состав набора

Набор Д-Димер высокочувствительный состоит из:

Р Латексный реагент (кат. № 0020007720): 3 флакона x 2 мл лиофилизированной суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых F(ab')₂ фрагментами мышиных



моноклональных антител (МА- 8D3) против Д-Димера, содержащей буфер, бычий сывороточный альбумин (БСА), стабилизаторы и консервант.

В Реакционный буфер (кат. № 0020007721): 3 флакона x 8 мл фосфатного буфера с добавлением БСА, стабилизаторов и консерванта.

С Д-Димер калибратор (кат. № 0020007722): 2 флакона x 1 мл лиофилизированного раствора частично очищенного Д-Димера, полученного из человеческого фибрина расщеплением человеческим плазмином, с добавлением БСА, буфера, стабилизаторов и консерванта.

Меры предосторожности и предупреждения

Латексный реагент:

Латексные реагенты содержат материалы животного происхождения, поэтому с ним следует обращаться как с потенциально инфицированным.



ОПАСНО

Класс опасности: Токсичен для репродуктивной системы, Категория 1B.

Характеристики опасности: Может повреждать фертильность и наносить вред плоду.

Меры предосторожности: Ознакомьтесь со специальными инструкциями перед использованием. Не используйте реагент до тех пор, пока все меры предосторожности не будут изучены и поняты. Надевайте защитные перчатки / защитную одежду / защиту для глаз и лица. При контакте с веществом: обратитесь за медицинской помощью. Храните в закрытом виде. Утилизируйте упаковку и содержимое согласно действующим локальным / региональным / национальным / международным стандартам.

Дополнительная информация об опасности:

До 3% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Реакционный буфер:

Реакционный буфер содержит менее 0,1% азиды натрия, который может образовывать взрывоопасные азиды на металлических частях лабораторной сантехники. Реакционный буфер содержит материалы животного происхождения, поэтому с ним следует обращаться как с потенциально инфицированным.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Класс опасности: Раздражение кожи 2, H315. Раздражение глаз 2, H319.

Характеристики опасности: H315: Вызывает раздражение кожи. H319: Вызывает серьезное раздражение глаз.

Меры предосторожности: P280: Надевайте защитные перчатки / защитную одежду / защиту для глаз и лица. P264: Тщательно мойте руки после работы. P332 + P313: При возникновении раздражения кожи: обратитесь за медицинской помощью. P302+P352: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промойте с большим количеством мыла и воды. P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Тщательно промойте глаза большим количеством воды в течение нескольких минут. Снимите контактные линзы, если пользуетесь ими, и если это легко

сделать. Продолжите промывание. P337+P313: Если раздражение глаз сохраняется: обратитесь за медицинской помощью.

Дополнительная информация об опасности:

До 4,5% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Д-Димер Калибратор:

Д-Димер Калибратор содержит материалы животного происхождения, поэтому с ним следует обращаться как с потенциально инфицированным. Д-Димер калибратор содержит материалы человеческого происхождения, которые были протестированы на отсутствие антител к ВИЧ, поверхностного антигена к Гепатитам В и Anti-HCV на стадии доноров. С данным продуктом, как и со всеми материалами, полученными от человека, необходимо обращаться согласно надлежащим процедурам лабораторной безопасности для минимизации риска передачи инфекционных заболеваний.¹⁵

Класс опасности: отсутствует

Характеристики опасности: отсутствуют

Меры предосторожности: отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

До 5,6% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Набор предназначен только для *in vitro* диагностики.

Приготовление

Латексный реагент:

Растворите содержимое каждого флакона в 2 мл дистиллированной воды (международный стандарт CLSI (ранее NCCLS) тип CLRW или эквивалент)¹⁶. Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что содержимое растворилось полностью. Выдержите реагент 30 минут при температуре 15 - 25°C и аккуратно перемешайте перед использованием, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Реакционный буфер: Аккуратно перемешайте перед использованием, переворачивая флакон. Реагент готов к использованию. Не встряхивайте.

Д-Димер калибратор:

Растворите содержимое каждого флакона в 1 мл дистиллированной воды (международный стандарт CLSI (ранее NCCLS) тип CLRW или эквивалент)¹⁶. Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что содержимое растворилось полностью. Выдержите реагент 30 минут при температуре 15 - 25°C и аккуратно перемешайте перед использованием, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Примечание: Не допускайте образования пены при гомогенизировании реагентов и калибратора. Пузыри на поверхности жидкости могут исказить показания жидкостных датчиков прибора.

Хранение и стабильность реагентов

Невскрытый реагент стабилен до истечения срока годности, указанного на флаконе, при температуре 2-8°C.

Латексный реагент: Стабильность после приготовления: 1 месяц при температуре 2-8°C в оригинальном флаконе или 4 дня при 15°C на борту анализаторов Семейства ACL TOP. Не замораживать.

Реакционный буфер: Открытый реагент стабилен 1 месяц при температуре 2-8°C или 4 дня при 15°C на борту анализаторов Семейства ACL TOP.

Пожалуйста, обратите внимание: Латексный реагент и Реакционный буфер имеют одинаковые характеристики стабильности и должны использоваться в паре на анализаторах Семейства ACL TOP. Если один из реагентов заменяется, второй компонент (т.е., Латексный реагент или Реакционный буфер) также должен быть заменен независимо от его остаточного количества во флаконе.

Д-Димер калибратор: Стабильность после приготовления: 3 дня при температуре 15-25 °C, 1 месяц при 2-8 °C или 2 месяца при -20 °C в оригинальном флаконе. Замороженный калибратор должен быть разморожен при 37°C и аккуратно перемешен перед использованием. Не допускайте повторного замораживания.

Низкая относительная влажность ассоциирована с усиленным испарением реагентов из открытых флаконов, что может привести к снижению их стабильности на борту. Для оптимальной стабильности реагентов на борту следует контролировать температуру и влажность в помещении лаборатории.

Методика исследования/работа с инструментом

Обратитесь к соответствующим инструкциям «Руководства по эксплуатации прибора».

Сбор и подготовка образцов

Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата. Обратитесь к документу CLSI H21-A5 для получения инструкций по сбору и хранению образцов.¹⁷

Замороженные образцы следует быстро разморозить при 37°C и отцентрифугировать перед исследованием. Анализ образцов должен быть проведен в течение 2 часов после разморозки.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

	Америки и Тихоокеанский рубеж. Кат. №	Европа Кат. №
Контроли Д-Димера	0020008610	0020008610
Разбавитель факторов	0009757600	0009757600

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать нормальный и патологический контроли.¹⁸ Для контроля качества разработаны Низкий и Высокий Контроли Д-Димера. Каждая лаборатория должна определить собственные значения среднего и стандартного отклонения, и разработать программу контроля для мониторинга качества выполнения лабораторных исследований. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы, следуйте правилам Вестгарда (Westgard et al).¹⁹

Прослеживаемость значений калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были получены при многократных измерениях на Коагулометрических Системах IL с использованием определенных лотов реагентов и внутреннего стандарта. Поскольку международный стандарт Д-Димера не определен, был установлен внутренний стандарт в соответствии с критерием гармонизации, предложенным W. Neiuwenhuizen.^{20,21}

Результаты

Результаты Д-Димера выражаются в нг/мл. Эти единицы соответствуют нг/мл Д-Димерных единиц (D-DU). Обратитесь к Руководству пользователя анализатора для получения дополнительной информации.

Примечание: в силу отсутствия Международного Референсного Стандарта некоторые производители выражают результат определения Д-Димера в FEU (Fibrinogen Equivalent Unit – Фибриноген Эквивалентная Единица). Соотношение между этими двумя единицами измерения ориентировочно следующее: 2 нг/мл FEU ~ 1 нг/мл D-DU.²²

Ограничения/интерферирующие вещества

На результаты определения Д-Димера на анализаторах Семейства ACL TOP не влияют гемоглобин – до 500 мг/дл, билирубин – до 19 мг/дл, триглицериды – до 1327 мг/дл и Ревматоидный фактор до 1400 МЕ/мл.

Моноклональные антитела (MA-8D3), используемые при производстве Латексного реагента Д-Димер, обладают максимальной чувствительностью к Д-Димер домену на поперечно сшитых продуктах деградации фибрина. Низкая перекрестная реактивность с продуктами деградации фибрина была обнаружена в образцах, содержащих очищенные Д- и Е-фрагменты в концентрации более 10 мкг/мл.

Образцы пациентов, получивших препараты мышинных моноклональных антител в целях диагностики или терапии, могут содержать человеческие антимышинные антитела (НАМА).

Присутствие НАМА может привести к завышению результатов иммунологического анализа, использующего мышинные моноклональные антитела. Реакционный буфер Д-Димер содержит агенты, блокирующие НАМА, что снижает их влияние на результат данного исследования.

Ожидаемые значения

Определение диапазона нормальных значений было проведено на 234 образцах из банка доноров крови.

Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (единицы)
Семейство ACL TOP	234	243 нг/мл

В силу наличия множества факторов, способных повлиять на результат (в том числе, возраст популяции)^{23,24}, каждая лаборатория должна установить собственный диапазон нормальных значений.

При постановке диагноза результаты данного исследования должны быть рассмотрены вместе с другой информацией, включая клинический контекст.

Рабочие характеристики

Воспроизводимость:

Общая и внутрисерийная воспроизводимость (в разных сериях и в разные дни) оценивались на основании многократных измерений.

Семейство ACL TOP	Среднее (нг/мл)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Д-Димер, пул плазмы	180	8,3%	11,0%
Низкий контроль Д-Димера	314	3,7%	7,0%
Высокий контроль Д-Димера	677	2,0%	7,0%

Корреляция:

Система	наклон	пересечение	r	Референсный метод
Семейство ACL TOP	0,95	-50,3	0,973	HemosIL Д-Димер на анализаторе Семейства ACL TOP

Было проведено дополнительное клиническое исследование сравнения результатов, полученных с помощью данного набора и коммерчески доступного набора HemosIL D-Dimer на 166 пациентах (17 нормальных, 32 пациента с ДВС, 11 – с ТГВ, 17 – с ТЭЛА и 89 – с различными заболеваниями). Коэффициент корреляции r на анализаторе ACL TOP ($n = 166$) составил 0.961. Во всех образцах пациентов с диагностированными ДВС, ТГВ и ТЭЛА были обнаружены повышенные уровни Д-Димера.

Также было проведено исследование исходов пациентов, поступивших в реанимационное отделение с подозрением на ТГВ или ТЭЛА (частота тромбэмболических заболеваний: 26%), на 300 замороженных образцах. У 78 из 300 пациентов диагноз тромботического события был подтвержден стандартными объективными тестами (47 пациентов с ТЭЛА, 31 – с ТГВ), у остальных 222 пациентов диагноз не подтвердился.

Результаты приведены ниже и основаны на пороговом значении, равном 230 нг/мл:

Система	N	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Отрицательная прогностическая значимость (95% ДИ)
Семейство ACL TOP	300	100% (95.4% – 100%)	46.8% (40.1% - 53.6%)	100% (96.5% - 100%)

Клинические характеристики амбулаторных пациентов с подозрением на тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) с использованием набора Д-Димер высокочувствительный в совокупности со шкалой предтестовой клинической вероятности для исключения венозной тромбоэмболии (ВТЭ).

Было проведено мультицентровое исследование на базе четырех больниц на 668 образцах пациентов, поступивших в отделение реанимации с подозрением на ТГВ или ТЭЛА. 307 пациентов поступили с подозрением на ТГВ и 361 – на ТЭЛА. Как часть исследования, пациенты подверглись оценке предтестовой вероятности (ПТВ) с использованием шкалы Веллса (Wells model) и были разделены на три группы: с высокой, умеренно и низкой вероятностью ТГВ или ТЭЛА. Пациенты, имеющие отрицательный результат в тесте на Д-Димер и низкую вероятность ВТЭ по шкале Веллса, не подвергались дальнейшему обследованию, и за их состоянием наблюдали в течение последующих 3 месяцев. В группе пациентов с отрицательным результатом теста на Д-Димер и умеренным риском по шкале Веллса решение о проведении визуализирующего обследования или о наблюдении в течение последующих 3 месяцев принимал лечащий врач. Пациенты с положительным результатом теста на Д-Димер или с высоким риском по шкале Веллса подвергались визуализирующему обследованию. Общая частота встречаемости ТГВ в популяции образцов составила 20.2% (62/307). Общая частота встречаемости ТЭЛА в популяции образцов составила 16.1% (58/361). В течение 3 последующих месяцев наблюдения ни у одного из пациентов с отрицательным тестом на Д-Димер не развились ТГВ или ТЭЛА.

Ниже приведены суммированные данные описанного исследования по определению чувствительности, специфичности и отрицательной прогностической значимости (ОПЗ) теста Д-Димер высокочувствительный, соответствующие 95% доверительному интервалу.

Подозрение на ТГВ	Все образцы	Высокая ПТВ	Низкая + Умеренная ПТВ
n	307	54	253
Чувствительность	100% (62/62) (94.2 – 100.0%)	100.0% (28/28) (87.7% - 100.0%)	100.0% (34/34) (89.7% - 100.0%)
Специфичность	38.4% (94/245) (32.2% - 44.8%)	34.6% (9/26) (17.2% - 55.7%)	38.8% (85/219) (32.3% - 45.6%)
Отрицательная прогностическая значимость	100.0% (94/94) (96.2% - 100.0%)	100.0% (9/9) (66.4% - 100.0%)	100.0% (85/85) (95.8% - 100.0%)
Подозрение на ТЭЛА	Все образцы	Высокая ПТВ	Низкая + Умеренная ПТВ

n	361	28	333
Чувствительность	100.0% (58/58) (93.8% - 100.0%)	100.0% (10/10) (69.2% - 100.0%)	100.0% (48/48) (92.6% - 100.0%)
Специфичность	35.6% (108/303) (30.2% - 41.3%)	16.7% (3/18) (3.6% - 41.4%)	36.8% (105/285) (31.2% - 42.7%)
Отрицательная прогностическая значимость	100.0% (108/108) (96.6% - 100.0%)	100.0% (3/3) (29.2% - 100.0%)	100.0% (105/105) (96.5% - 100.0%)

Результаты определения воспроизводимости и корреляции были получены при использовании определенных лотов реагентов и контрольных материалов.

Пределы определения

Система	
Семейство ACL TOP	137 нг/мл

Линейность

Система	Автоматический повтор выключен	Автоматический повтор включен
Семейство ACL TOP	150 – 3680 нг/мл	150 – 69000 нг/мл

Когда функция автоматического повтора анализа включена, прибор проводит разведение образца на борту и корректирует итоговый результат с учетом фактора разведения, что позволяет расширить диапазон линейности до 69000 нг/мл. Если результат все еще выходит за пределы расширенного диапазона линейности, т.е. если он составляет более 69000 нг/мл, тогда образец следует вручную развести в соотношении 1:100 с помощью Разбавителя факторов (20 мкл образца + 1980 мкл Разбавителя факторов) и повторно провести анализ в стандартном режиме. Результат затем следует умножить на 100 для учета разведения.

Метод не имеет эффекта прозоны до концентраций 197000 нг/мл.

Д-ДИМЕР ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ 500 HEMOSIL – 0020500100

Назначение

Д-Димер Высокочувствительный 500 – это автоматический иммуноанализ, усиленный латексными частицами, для количественного определения Д-Димера в человеческой цитратной плазме на коагулометрах Семейства ACL TOP, использующийся в сочетании с оценкой клинической вероятности для исключения венозной тромбоэмболии (ВТЭ) у амбулаторных больных с подозрением на тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболию легочной артерии (ТЭЛА).

Краткое описание и принцип

Д-Димеры входят в состав растворимых продуктов деградации фибрина, поперечно сшитого фактором XIIIa.¹ Плазмин, сериновая протеаза, в отсутствие ингибиторов расщепляет нерастворимый поперечно-сшитый фибрин, образуя ряд растворимых производных. Их молекулярный вес зависит от степени расщепления. Эти растворимые продукты деградации фибрина содержат неоантиген (Д-Димер домен), который отсутствует в исходной молекуле фибриногена, продуктах его деградации или в растворимом фибрине.^{2,3} Определение Д-Димера становится широко распространенным инструментом для диагностики тромбозов и мониторинга тромболитической терапии.⁴

Повышенные уровни Д-Димера наблюдаются при таких клинических случаях, как тромбоз глубоких вен (ТГВ), тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС)⁵. Уровень Д-Димера также повышается при нормально протекающей беременности, однако очень высокий уровень ассоциирован с ее осложнениями.⁶

Было показано, что отрицательный результат теста на Д-Димер в сочетании с низкой клинической вероятностью имеет высокую отрицательную прогностическую значимость в диагностике ТГВ и ТЭЛА.⁷⁻¹³

Латексный реагент в наборе Д-Димер Высокочувствительный 500 представляет собой суспензию полистироловых латексных частиц одинакового размера, покрытых F(ab')₂ фрагментами моноклональных антител, высоко специфичных к Д-Димер домену, входящему в состав молекул растворимых производных фибрина. Использование F(ab')₂ фрагментов позволяет более специфично определять Д-Димер, исключая влияние таких эндогенных факторов, как ревматоидный фактор. Когда плазму, содержащую Д-Димер, смешивают с латексным реагентом и буфером, входящим в состав набора, латексные частицы агглютинируют. Степень агглютинации прямо пропорциональна концентрации Д-Димера в образце и определяется по уменьшению светопропускания в реакционной смеси, вызванного образованием агрегатов (турбидиметрический иммуноанализ).¹⁴

Состав набора

Набор Д-Димер Высокочувствительный 500 состоит из:

R Латексный реагент (кат. № 0020500110): 3 флакона x 4 мл лиофилизированной суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых F(ab')₂ фрагментами мышиных

моноклональных антител (МА- 8D3) против Д-Димера, содержащей буфер, бычий сывороточный альбумин (БСА), стабилизаторы и консервант.

В Реакционный буфер (кат. № 0020500120): 3 флакона х 6 мл буфера Нерес с добавлением БСА, стабилизаторов и консерванта.

С Д-Димер калибратор (кат. № 0020500130): 2 флакона х 1 мл лиофилизированного раствора частично очищенного Д-Димера, полученного из человеческого фибрина расщеплением человеческим плазмином, с добавлением БСА, буфера, стабилизаторов и консерванта.

Меры предосторожности и предупреждения

Материал для производства данного набора был протестирован на отсутствие поверхностного антигена к Гепатитам В (HBsAg), Anti-HCV и антител к ВИЧ 1/2. Обращайтесь как с потенциально инфицированным.¹⁵

Все реагенты содержат менее 0,1% азиды натрия, который может образовывать взрывоопасные азиды на металлических частях лабораторной сантехники. Используйте надлежащие процедуры утилизации.

Класс опасности: отсутствует

Характеристики опасности: отсутствуют

Меры предосторожности: отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

Латексный реагент: 2,3% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (дыхательной) для здоровья человека.

Реакционный буфер:

До 5,7% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Д-Димер Калибратор:

До 5,6% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Набор предназначен только для *in vitro* диагностики.

Приготовление

Латексный реагент: Аккуратно перемешайте перед использованием, несколько раз перевернув флакон. Не встряхивайте. Не допускайте образования пены.

Реакционный буфер: Аккуратно перемешайте перед использованием, несколько раз перевернув флакон. Не встряхивайте. Не допускайте образования пены.

Д-Димер калибратор:

Растворите содержимое каждого флакона в 1 мл дистиллированной воды (международный стандарт CLSI (ранее NCCLS) тип CLRW или эквивалент)¹⁶. Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что содержимое растворилось полностью. Выдержите реагент 30 минут при температуре 15 - 25°C и аккуратно перемешайте перед использованием, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Примечание: Не допускайте образования пены при гомогенизировании реагентов и калибратора. Пузыри на поверхности жидкости могут искажать показания жидкостных датчиков прибора.

Хранение и стабильность реагентов

Невскрытые реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе, при температуре 2-8°C.

Латексный реагент: Открытый реагент стабилен 1 месяц при температуре 2-8°C или 7 дней при 15°C на борту анализаторов Семейства ACL TOP.

Реакционный буфер: Открытый реагент стабилен 1 месяц при температуре 2-8°C или 7 дней при 15°C на борту анализаторов Семейства ACL TOP.

Пожалуйста, обратите внимание: Латексный реагент и Реакционный буфер имеют одинаковые характеристики стабильности и должны использоваться в паре на анализаторах Семейства ACL TOP. Если один из реагентов заменяется, второй компонент (т.е., Латексный реагент или Реакционный буфер) также должен быть заменен независимо от его остаточного количества во флаконе.

Д-Димер калибратор: Стабильность после приготовления: 1 месяц при 2-8 °C, 3 дня при 15-25°C или 2 месяца при -20 °C в оригинальном флаконе. Замороженный калибратор должен быть разморожен при 37°C и аккуратно перемешен перед использованием. Не допускайте повторного замораживания.

Методика исследования/работа с инструментом

Обратитесь к соответствующим инструкциям «Руководства по эксплуатации прибора».

Сбор и подготовка образцов

Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата. Обратитесь к документу CLSI H21-A5 для получения инструкций по сбору и хранению образцов.¹⁷

Замороженные образцы следует быстро разморозить при 37°C и отцентрифугировать перед исследованием. Анализ образцов должен быть проведен в течение 2 часов после разморозки.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

Контроли Д-Димера высокочувствительного 500 (лиофилизированные)	0020500200
Контроли Д-Димера высокочувствительного 500 (жидкие)*	0020013100
Контроли Д-Димера высокочувствительного 500 (жидкие)*	0022550030
Разбавитель факторов	0009757600

* Доступны не во всех странах

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать нормальный и патологический контроли.¹⁸ Для контроля качества разработаны Контроли Д-Димера высокочувствительного 500. Каждая лаборатория должна определить собственные значения среднего и стандартного отклонения, и разработать программу контроля для мониторинга качества выполнения лабораторных исследований. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы, следуйте правилам Вестгарда (Westgard et al).¹⁹

Прослеживаемость значений калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были получены при многократных измерениях на анализаторах Семейства ACL TOP с использованием определенных лотов реагентов и внутреннего стандарта.

Поскольку международный стандарт Д-Димера не определен, был установлен внутренний стандарт в соответствии с критерием гармонизации, предложенным W. Neiuwenhuizen.²⁰⁻²² и P. Meijer²³.

Результаты

Результаты Д-Димера высокочувствительного 500 выражаются в нг/мл. Эти единицы соответствуют FEU (Fibrinogen Equivalent Unit – Фибриноген Эквивалентная Единица). За дополнительной информацией обратитесь к Руководству пользователя.

Ограничения/интерферирующие вещества

На результаты определения Д-Димера на анализаторах Семейства ACL TOP не влияют гемоглобин – до 500 мг/дл, билирубин – до 19 мг/дл, триглицериды – до 1327 мг/дл и Ревматоидный фактор до 1400 МЕ/мл.

Моноклональные антитела (MA-8D3), используемые при производстве Латексного реагента Д-Димер, обладают максимальной чувствительностью к Д-Димер домену на поперечно сшитых продуктах деградации фибрина. Низкая перекрестная реактивность с продуктами деградации фибрина была обнаружена в образцах, содержащих очищенные Д- и Е-фрагменты в концентрации более 10 мкг/мл.

Образцы пациентов, получивших препараты мышинных моноклональных антител в целях диагностики или терапии, могут содержать человеческие антимышинные антитела (НАМА). Присутствие НАМА может привести к завышению результатов иммунологического анализа, использующего мышинные моноклональные антитела. Реакционный буфер Д-Димер содержит агенты, блокирующие НАМА, что снижает их влияние на результат данного исследования.

Ожидаемые значения

Определение диапазона нормальных значений было проведено на 138 образцах из банка доноров крови.

Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (единицы)
Семейство ACL TOP	138	500 нг/мл

В силу наличия множества факторов, способных повлиять на результат (в том числе, возраст популяции)^{24,25}, каждая лаборатория должна установить собственный диапазон нормальных значений.

При постановке диагноза результаты данного исследования должны быть рассмотрены вместе с другой информацией, включая клинический контекст.

Рабочие характеристики

Воспроизводимость:

Воспроизводимость была определена в соответствии с CLSI EP05-A2, на протяжении 20 дней, по 2 сессии в день, по 2 повтора для каждого уровня образцов (n = 80), с использованием одного лота реагента на репрезентативном представительстве Семейства ACL TOP (ACL TOP 700)²⁶.

Семейство ACL TOP	Среднее (нг/мл FEU)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Д-Димер, пул плазмы	423	7.2	9.5
Низкий контроль Д-Димера высокочувствительного 500 (лиофилизированный)	877	2.9	8.9
Высокий контроль Д-Димера высокочувствительного 500 (лиофилизированный)	2469	2.5	7.3
Контроль Д-Димера высокочувствительного 500, уровень 1 (жидкий)	559	4.7	4.8
Контроль Д-Димера высокочувствительного 500, уровень 2 (жидкий)	1908	1.7	2.2

Корреляция:²¹

Система	N	наклон	пересечение	r	Референсный метод
Семейство ACL TOP	100	1.00	-147	0.981	Метод ИФА (нг/мл)

Было проведено исследование исходов пациентов, поступивших в реанимационное отделение с подозрением на ТГВ или ТЭТА (частота тромбоэмболических заболеваний: 25,4%), на 295 замороженных образцах. У 75 из 295 пациентов диагноз тромботического события был

подтвержден стандартными объективными тестами (47 пациентов с ТЭЛА, 28 – с ТГВ), у остальных 220 пациентов диагноз не подтвердился.

Результаты приведены ниже и основаны на пороговом значении, равном 500 нг/мл:

Система	N	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Отрицательная прогностическая значимость (95% ДИ)
Семейство ACL TOP	295	100% (95.2% – 100%)	42.3% (35.7% - 49.1%)	100% (96.1% - 100%)

Клинические характеристики амбулаторных пациентов с подозрением на тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) с использованием набора Д-Димер Высокочувствительный 500 в совокупности со шкалой предтестовой клинической вероятности для исключения венозной тромбоэмболии (ВТЭ):

Было проведено мультицентровое исследование на базе четырех больниц на 747 образцах пациентов, поступивших в отделение реанимации с подозрением на ТГВ или ТЭЛА. 401 пациент поступил с подозрением на ТГВ и 346 – на ТЭЛА. Как часть исследования, пациенты подверглись оценке предтестовой вероятности (ПТВ) с использованием шкалы Веллса (Wells model) и были разделены на три группы: с высокой, умеренно и низкой вероятностью ТГВ или ТЭЛА. Пациенты, имеющие отрицательный результат в тесте на Д-Димер и низкую вероятность ВТЭ по шкале Веллса, не подвергались дальнейшему обследованию, и за их состоянием наблюдали в течение последующих 3 месяцев. В группе пациентов с отрицательным результатом теста на Д-Димер и умеренным риском по шкале Веллса решение о проведении визуализирующего обследования или о наблюдении в течение последующих 3 месяцев принимал лечащий врач. Пациенты с положительным результатом теста на Д-Димер или с высоким риском по шкале Веллса подвергались визуализирующему обследованию.

Общая частота встречаемости ТГВ в популяции образцов составила 22.4% (90/401). Общая частота встречаемости ТЭЛА в популяции образцов составила 15.0% (52/346). В течение 3 последующих месяцев наблюдения ни у одного из пациентов с отрицательным тестом на Д-Димер не развились ТГВ или ТЭЛА.

Ниже приведены суммированные данные описанного исследования по определению чувствительности, специфичности и отрицательной прогностической значимости (ОПЗ) теста Д-Димер высокочувствительный 500, соответствующие 95% доверительному интервалу при установленном ранее пороговом значении, равном 500 нг/мл.

Подозрение на ТГВ	Все образцы	Высокая ПТВ	Низкая + Умеренная ПТВ
n	401	79	322
Чувствительность	100% (90/90) (96.0 – 100.0%)	100.0% (45/45) (92.1% - 100.0%)	100.0% (45/45) (92.1% - 100.0%)
Специфичность	42.1% (131/311) (36.6% - 47.8%)	32.4% (11/34) (17.4% - 50.5%)	43.3% (120/277) (37.4% - 49.4%)

Отрицательная прогностическая значимость	100.0% (131/131) (97.2% - 100.0%)	100.0% (11/11) (71.5% - 100.0%)	100.0% (120/120) (97.0% - 100.0%)
Подозрение на ТЭЛА	Все образцы	Высокая ПТВ	Низкая + Умеренная ПТВ
n	346	24	322
Чувствительность	100.0% (52/52) (93.2% - 100.0%)	100.0% (9/9) (66.4% - 100.0%)	100.0% (43/43) (91.8% - 100.0%)
Специфичность	48.3% (142/294) (42.5% - 54.2%)	33.3% (5/15) (11.8% - 61.6%)	49.1% (137/279) (43.1% - 55.1%)
Отрицательная прогностическая значимость	100.0% (142/142) (97.4% - 100.0%)	100.0% (5/5) (47.8% - 100.0%)	100.0% (137/137) (97.3% - 100.0%)

Результаты определения воспроизводимости и корреляции были получены при использовании определенных лотов реагентов и контрольных материалов.

Пределы определения

Система	
Семейство ACL TOP	203 нг/мл

Линейность

Система	Автоматический повтор выключен	Автоматический повтор включен
Семейство ACL TOP	215 - 7650 нг/мл	215 - 128000 нг/мл

Когда функция автоматического повтора анализа включена, прибор проводит разведение образца на борту и корректирует итоговый результат с учетом фактора разведения, что позволяет расширить диапазон линейности до 128000 нг/мл. Если результат все еще выходит за пределы расширенного диапазона линейности, т.е. если он составляет более 128000 нг/мл, тогда образец следует вручную развести в соотношении 1:100 с помощью Разбавителя факторов (20 мкл образца + 1980 мкл Разбавителя факторов) и повторно провести анализ в стандартном режиме. Результат затем следует умножить на 100 для учета разведения.

Метод не имеет эффекта прозоны до концентраций 320000 нг/мл.

ПРОТЕИН S СВОБОДНЫЙ HEMOSIL – 0020002700

Назначение

Автоматизированный латексный иммуноанализ для количественного определения свободного протеина S в человеческой цитратной плазме. Оптимизирован для работы на коагулометрах IL.

Краткое описание и принцип

Протеин S является витамин K-зависимым кофактором антикоагулянтной и профибринолитической активности активированного протеина C¹. В плазме протеин S присутствует в двух формах: свободный протеин S (40%) и протеин S, связанный с C4b-связывающим белком комплемента (C4BP) (60%). Только свободный протеин S обладает функциональной кофакторной активностью².

Дефицит протеина S может быть наследственным³ или приобретенным. Приобретенный дефицит может наблюдаться при беременности, оральной антикоагулянтной терапии, использовании оральных контрацептивов, при заболеваниях печени, у новорожденных и при различных других клинических ситуациях^{4,5,6}. Дефицит протеина S связывают с высоким риском развития венозной тромбоэмболии, особенно в молодом возрасте^{7,8}.

Присутствие свободного протеина S определяется по увеличению мутности раствора в результате агглютинации двух латексных реагентов. Очищенный белок C4BP, абсорбированный на латексе в первом латексном реагенте и имеющий высокую аффинность к свободному протеину S, взаимодействует с плазмой пациента в присутствии Ca²⁺ ионов^{9,10,11}. Свободный протеин S, абсорбированный на C4BP-латексе, запускает реакцию агглютинации со вторым латексным реагентом, сенсibilизированным моноклональными антителами против человеческого протеина S. Степень агглютинации прямо пропорциональна концентрации свободного протеина S в исследуемом образце.

Состав набора

Набор **Свободный протеин S** включает:

B C4BP буфер (кат. № 0020002720): 3 x 4мл флакона боратного буфера, содержащего бычий сывороточный альбумин (БСА), стабилизаторы и консервант.

R1 C4BP латекс (кат. № 0020002710): 3 x 4мл флакона лиофилизированной суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых очищенным человеческим C4BP с добавленными БСА, стабилизаторами и консервантом.

R2 Анти-PS MAб латекс (кат. № 0020002730): 3 x 2мл флакона лиофилизированной суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых моноклональными антителами против человеческого протеина S с добавленными БСА, стабилизаторами и консервантом.

Меры предосторожности

Материал данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2. Работайте как с потенциально инфицированным материалом¹².



Опасно

C4BP буфер, C4BP латекс, Анти-PS MAб латекс

Класс опасности: Репродуктивная токсичность, кат. 1B.

Характеристики опасности: Может нанести вред фертильности или не рождённому ребенку.

Меры предосторожности: Перед применением ознакомьтесь с инструкцией. Не используйте реагент до тех пор, пока все меры предосторожности не будут изучены и поняты. Используйте защитные перчатки / защитную одежду / защиту для глаз и лица. В случае, если Вы подверглись воздействию вещества, обратитесь за медицинской помощью. Хранить в плотно закрытых флаконах. Утилизируйте

содержимое и упаковку согласно местным/ региональным/ национальным / международным стандартам.

Дополнительная информация об опасности: EUN210: Листок безопасности предоставляется по запросу. Наборы предназначены только для in vitro диагностики.

Подготовка

С4BP буфер: готов к использованию.

С4BP латекс: растворите содержимое флакона с С4BP латексом, полностью перелив содержимое одного флакона С4BP буфера во флакон с латексным реагентом. Закройте флакон крышкой и аккуратно перемешайте в течение не менее 20 секунд до полного разведения лифилизированного латекса. Убедитесь в полном растворении реагента. Он должен превратиться в гомогенную слегка молочную суспензию. Выдержите раствор 30 минут при температуре 15 - 25°C, перед использованием аккуратно перемешайте. Не встряхивайте.

Анти-PS Mab латекс: перед использованием перемешайте, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Примечание: Избегайте пенообразования при перемешивании реагентов. Пузырьки на поверхности жидкости могут повлиять на показания жидкостных датчиков прибора.

Стабильность и хранение реагентов

Невыскранные реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе, при температуре 2-8°C.

С4BP латекс – Стабилен после растворения: 1 месяц при 2–8°C в оригинальном флаконе, 1 неделю при 15°C на борту ACL ELITE® /ELITE PRO/8/9/10000 и анализаторов Семейств ACL TOP® и ACL TOP 50-серии[†]. Не замораживать.

Анти-PS Mab латекс – Стабилен после растворения: 1 месяц при 2-8°C в оригинальном флаконе, 1 неделю при 15-25°C на борту ACL ELITE /ELITE PRO/8/9/10000 и 1 неделю при 15°C на борту анализаторов Семейств ACL TOP® и ACL TOP 50-серии[†]. Не замораживать.

Для оптимальной стабильности реагентов вынимайте их из прибора и храните в оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.



Низкая относительная влажность ассоциирована с усиленным испарением реагентов из открытых флаконов, что может снижать стабильность реагентов на борту. Для достижения наилучшей стабильности на борту необходимо контролировать температуру и влажность в помещении лаборатории.

Методика исследования/работа на инструменте

Обратитесь к соответствующим инструкциям «Руководства по эксплуатации прибора» и/или «Руководства по применению методов».

Сбор и подготовка образцов

Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата 3,2%. Дальнейшая подготовка и хранение образца проводятся согласно международной инструкции CLSI H21-A5¹³.

Замороженная плазма должна быть быстро разморожена при 37°C и аккуратно перемешана перед исследованием. Анализ должен быть выполнен не позднее двух часов после размораживания.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

	Америки и Тихоокеанский регион Кат. №	Европа Кат. №
Калибровочная плазма	0020003700	0020003700
Нормальный контроль	0020003120/0020003110	0020003110
Специальный контроль, уровень 1	0020011000	0020011000

Специальный контроль, уровень 2	0020012000	0020012000
Низкий патологический контроль	0020003220/0020003210	0020003210
Разбавитель факторов	0009757600	0009757600

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать нормальный и патологические контроли¹⁴. Для контроля качества разработаны нормальный контроль, низкий патологический контроль и специальные контроли уровней 1 и 2. Каждая лаборатория должна установить собственные среднее значение и стандартное отклонение, и разработать программу контроля качества для мониторинга качества лабораторных исследований. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы, следуйте правилам Вестгарда (Westgard et al).¹⁵

Результаты

Результаты определения свободного протеина S выражают в % от нормы. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. При постановке диагноза вместе с результатами анализа следует учитывать и другую информацию, в том числе, клиническую картину.

Ограничения/интерферирующие вещества

На результаты определения свободного протеина S на приборах ACL не оказывает влияния гепарин (НГ или НМГ) до 1,5 Ед/мл, билирубин до 18 мг/дл, гемоглобин до 200 мг/дл, липиды до 1280 мг/дл, тромбоциты до 10^{11} /л и ревматоидный фактор до 350 МЕ/мл.

На результаты определения свободного протеина S на приборах ACL TOP и ACL TOP 50-серии[†] не оказывает влияния гепарин (НГ или НМГ) до 1,5 Ед/мл, билирубин до 25 мг/дл, гемоглобин до 200 мг/дл, триглицериды до 1500 мг/дл, тромбоциты до 10^{11} /л и ревматоидный фактор до 900 МЕ/мл.

На результаты определения свободного протеина S не оказывает влияния мутация фактора V Лейден (APC-R).

Ожидаемые значения

Определение диапазона нормальных значений выполнено с использованием набора Свободный протеин S на коагулометрах IL.

Пол	N	ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	N	Семейства ACL TOP, ACL TOP 50-серии [†]
Мужской (% свободного протеина S)	130	72.2 – 123.3	128	74.1 – 146.1
Женский (% свободного протеина S)	102	57.6 – 112.5	128	54.7 – 123.7

* Примечание: Нормальный диапазон для пациентов женского пола зависит от возраста и гормонального статуса.¹⁶ Диапазоны были рассчитаны в соответствии с рекомендациями Международной федерации клинической химии (IFCC)¹⁷. Результаты получены с использованием определенного лота реагентов. В силу наличия множества факторов, влияющих на результат, каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон нормальных значений для свободного протеина S.

Характеристики

Воспроизводимость:

Воспроизводимость внутрисерийная и общая (в разных сериях и в разные дни) оценивалась на основании многократных измерений.

ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	Среднее (% PS)	CV% (внутри серии)	CV % (общее)
Нормальный контроль	97.1	1.8	3.0
Специальный контроль, уровень 1	56.6	2.9	4.9
Специальный контроль, уровень 2	21.8	3.2	5.9
Семейство ACL TOP	Среднее (% PS)	CV% (внутри серии)	CV % (общее)
Нормальный контроль	112.0	2.5	3.4
Специальный контроль, уровень 1	64.9	1.9	3.2
Специальный контроль, уровень 2	29.1	2.9	4.2
Семейство ACL TOP 50-серии[†]	Среднее (% PS)	CV% (внутри серии)	CV % (общее)
Нормальный контроль	96.1	0.8	2.6
Специальный контроль, уровень 1	59.8	1.0	2.4
Специальный контроль, уровень 2	28.1	1.6	2.8

Корреляция

Система	Наклон	Пересечение	r	Метод сравнения
ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	0.933	5.09	0.972	Свободный протеин S EIA
Семейство ACL TOP	1.000	-7.0	0.986	Свободный протеин S на ACL Advance
Семейство ACL TOP 50-серии [†]	0.940	0.63	0.997	Свободный протеин S на TOP 500 CTS

Исследование воспроизводимости и корреляционный анализ проводились с использованием определенных лотов реагентов и контролей.

Предел чувствительности

Система

ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	3.2 (% свободного протеина S)
Семейства ACL TOP/ ACL TOP 50-серии [†]	7.3 (% свободного протеина S)

Линейность

Система

ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	10 - 135 (% свободного протеина S)
Семейства ACL TOP/ ACL TOP 50-серии [†]	11 - 150 (% свободного протеина S)

Если результат выходит за пределы диапазона линейности, образец следует вручную развести 1:2 Разбавителем факторов (200 мкл + 200 мкл Разбавителя факторов), проанализировать его заново, и полученный результат умножить на 2.

Приборы с возможностью выполнения повторного анализа выполняют разведение 1:2 и коррекцию результата с учетом фактора разведения автоматически.

† Семейство ACL TOP 50-серии = ACL TOP 350 CTS; ACL TOP 550 CTS; ACL TOP 750; ACL TOP 750 CTS; ACL TOP 750 LAS.

ФАКТОР XIII АНТИГЕН HEMOSIL – 0020201300

Назначение

Автоматический высокочувствительный латексный иммунотурбидиметрический анализ, усиленный латексными частицами, для количественного определения Антигена Фактора XIII (FXIII Ag) в человеческой цитратной плазме на Коагулометрических Системах IL.

Краткое описание и принцип

Фактор XIII, также называемый фибринстабилизирующим фактором, является зимогеном, состоящим из двух потенциально активных субъединиц А и субъединиц В (белков-носителей), который циркулирует в плазме как тетрамер. В заключительной фазе каскада коагуляции под воздействием тромбина и Ca^{2+} , субъединицы А отделяются от субъединиц В, принимая энзимоактивную форму.¹⁻³ Фактор XIII важен для поддержания гемостаза благодаря своей роли в стабилизации фибрина и защите фибрина от протеолитического расщепления фибринолитической системой.²

Пациенты с наследственным дефицитом Фактора XIII демонстрируют острый геморрагический диатез и в большинстве случаев требуют пожизненной заместительной терапии. Кроме того, Фактор XIII участвует в поддержании беременности и заживлении ран.³ Приобретенный дефицит Фактора XIII может возникнуть при нескольких заболеваниях, включая воспалительную болезнь кишечника и острую лейкемию.

Повышенный уровень плазменной активности Фактора XIII наблюдался у пациентов с облитерирующим атеросклерозом и диабетической ангиопатией, а также у пациентов, страдающих хронической лейкемией, и у пациентов с повышенной мегакариоцитарной активностью.

В последнее время полиморфизм субъединицы А Фактора XIII ассоциируют с защитным эффектом против окклюзионного поражения сосудов.²⁻³

Латексный реагент Фактор XIII антиген – это суспензия одинаковых по размеру полистирольных латексных частиц, покрытых кроличьими поликлональными антителами, высокоспецифическими к А-субъединицам Фактора XIII. Когда плазма, содержащая активную А-субъединицу Фактора XIII, смешивается с Латексным Реагентом и Буфером, входящими в набор, латексные частицы агглютинируют. Степень агглютинации прямо пропорциональна концентрации Антигена Фактора XIII в образце и определяется путем измерения снижения светопропускания, вызванного образованием агрегатов.⁴

Состав набора

Набор **Фактор XIII антиген** состоит из:

Р Латексный реагент (кат. № 0020201310) в жидкой форме, готов к использованию: 2 x 2.5 мл флакона суспензии полистирольных латексных частиц покрытых кроличьими поликлональными антителами против А-субъединицы Фактора XIII, с буфером, стабилизатором и консервантами.

Б Буфер (кат. № 0020201320) в жидкой форме, готов к использованию: 2 x 5 мл флакона Трис-буфера, содержащего бычий сывороточный альбумин, стабилизаторы и консерванты.

Di Дилуэнт (кат. № 0020201330) в жидкой форме, готов к использованию: 2 x 6 мл флакона Трис-буфера, содержащего бычий сывороточный альбумин, стабилизаторы и консерванты.

Меры предосторожности

Класс опасности: отсутствует

Характеристики опасности: отсутствуют

Меры предосторожности: отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

Латексный реагент: отсутствуют

Буфер: EUN210: Паспорт безопасности предоставляется по запросу. Около 1,2% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для здоровья человека.

Дилуэнт: EUN210: Паспорт безопасности предоставляется по запросу. Около 2,2% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Все реагенты содержат менее 0,1% азиды натрия, который может образовывать взрывоопасные азиды на металлических частях лабораторной сантехники. Используйте надлежащие процедуры утилизации.

Данный продукт предназначен для *in vitro* диагностики.

Приготовление

Перед использованием перемешайте все реагенты путем переворачивания.

Примечание: Не допускайте формирования пены при перемешивании реагентов. Пузырьки на поверхности жидкостей могут помешать корректной работе жидкостных датчиков.

Стабильность и хранение реагентов

Закрытые реагенты стабильны до истечения срока, указанного на флаконе, при 2-8°C. Открытые реагенты стабильны 1 месяц при 2-8°C в оригинальном флаконе или 4 дня при 15°C на борту коагулометров ACL TOP™.

Не замораживать.

Для оптимальной стабильности изымайте реагенты из анализатора и храните при 2-8°C в оригинальных флаконах.

Низкая относительная влажность ассоциирована с усиленным испарением открытых реагентов, что может приводить к снижению их стабильности на борту. Для оптимальной стабильности реагентов на борту следует контролировать температуру и влажность в помещении лаборатории.

Методика/ работа на приборе

Обратитесь к соответствующему Руководству по эксплуатации прибора IL и/или Руководству по использованию для получения полных инструкций по процедуре проведения анализа.



ПРИМЕЧАНИЕ: Тестирование на антиген Фактора XIII на коагулометрических системах IL следует проводить единой серией с процедурой промывки до и после измерений с целью избежания любых возможных эффектов переноса.

Сбор и подготовка образцов

Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата. Обратитесь к документу CLSI H21-A5 для получения инструкций по сбору и хранению образцов.⁵

Замороженные образцы плазмы следует разморозить при 37°C в течение не менее 15 минут и отцентрифугировать перед исследованием. Тестирование должно быть проведено в течение 2 часов после размораживания.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

	Америки и Тихоокеанский рубеж кат. №	Европа кат. №
Калибровочная плазма	0020003700	0020003700
Нормальный контроль	0020003120	0020003110
Специальный контроль, уровень 2	0020012000	0020012000

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать нормальный и патологический контроли.⁶ Для контроля качества разработаны нормальный контроль и специальный контроль, уровень 2. Каждая лаборатория должна определить собственные значения среднего и стандартного отклонения, и разработать программу контроля для мониторинга качества выполнения лабораторных исследований. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы, следуйте правилам Вестгарда (Westgard et al).⁷

Результаты

Результаты теста FXIII Ag выражаются в % от нормы. Диапазон измерения 0,3-150%.

За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора.

Для постановки диагноза результаты теста следует рассматривать вместе с другой информацией, включая клинический контекст.

Ограничения/интерферирующие вещества

На результаты теста FXIII Ag, проведенного на Коагулометрических Системах IL, не оказывают влияние гемоглобин в концентрации до 500 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 1280 мг/дл и Ревматоидный Фактор до 500 МЕ/мл.

Ожидаемые значения

Определение нормального диапазона было выполнено с использованием набора реагентов FXIII Ag.

Система	N	Диапазон (единицы)
ACL TOP	121	75.2 – 154.8 (% FXIII Ag)

Диапазон был рассчитан согласно рекомендациям NCCLS, описанным в документе C28-A2.⁸

Указанные результаты были получены с использованием определенного лота реагента.

В силу наличия множества факторов, влияющих на результат, каждая лаборатория должна установить собственный диапазон нормальных значений FXIII Ag.

Рабочие характеристики

Воспроизводимость

Общая и внутрисерийная воспроизводимость (от серии к серии и между разными днями) оценивались на основании многократных измерений.

ACL TOP	Среднее (% FXIII Ag)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Нормальный контроль	75.2	2.9	3.5
Специальный контроль, уровень 2	37.7	4.5	5.5

Корреляция

Система	наклон	пересечение	r	Референсный метод
ACL TOP	1.017	-7.788	0.950	Фотометрический метод определения FXIII на оптическом приборе

Результаты определения воспроизводимости и корреляции были проведены при использовании определенных лотов реагентов.

Предел детекции

Система	
ACL TOP	2,5 (% FXIII Ag)

Линейностью

Система	Единицы	Стандартный тест	Повтор (высокий диапазон)	Повтор (низкий диапазон)
ACL TOP	(% FXIII Ag)	15 - 150	30 - 300	3.8 - 45

Эффект прозоны отсутствует до 870% на ACL TOP.

Если результат исследования (в стандартном тесте) ниже нижней границы диапазона линейности (т.е., если FXIII Ag ниже 15%), то образец следует протестировать повторно в режиме низкого диапазона.

Инструменты с возможностью автоматического проведения повторного анализа (в частности, ACL TOP) проводят данное измерение и, тем самым, расширяют диапазон линейности вниз до 3,8%.

Если результат исследования (в стандартном тесте) выше верхней границы диапазона линейности (т.е., если FXIII Ag выше 150%), образец будет автоматически проанализирован повторно, и результат будет автоматически скорректирован, что позволяет расширить диапазон линейности вверх до 300% (ACL TOP).

Литература:

1. Ariëns RAS, Lai TS, Weisel JW, Greenberg CS, Grant PJ. Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms. *Blood*, 2002; Vol. 100, No 3: 743-754.
2. Kohler HP. Role of blood coagulation factor XIII in vascular diseases. *Swiss Med Wkly*. 2001; 131: 31-4.
3. Berczky Z, Katona É, Muszbek L. Fibrin Stabilization (Factor XIII), Fibrin Structure and Thrombosis. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2003/2004; 33: 430-437.
4. Newman DJ, Henneberry H and Price CP. Particle enhanced light scattering immunoassay, *Ann. Clin. Biochem*. 1992; 29: 22-42.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma- Based Coagulation Assays, Fourth Edition, NCCLS Document H21-A4; Vol. 23 No. 35.
6. Zucker S, Cathey MH and West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, *Am. J. Clin. Pathol*. 1970; 53: 924-927.
7. Westgard JO and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Processes, AACCC Press 1986.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline-Second Edition, NCCLS Document C28-A2; Vol. 15 No. 4.

Назначение

Автоматизированный усовершенствованный латексный иммуноанализ для количественного определения активности фактора Виллебранда (VWF Activity) в человеческой цитратной плазме. Оптимизирован для работы на Коагулометрических Системах IL.

Краткое описание и принцип

Установление диагноза болезни Виллебранда (БВ), вероятно, наиболее часто встречающейся формы наследственной кровоточивости, требует проведения целого ряда специальных лабораторных тестов. Измерение и сравнение уровня антигена фактора Виллебранда (VWF:Ag), активности фактора Виллебранда и фактора VIII (FVIII) в плазме необходимо для дифференциации количественных дефектов (тип 1 или тип 3) от качественных дефектов (тип 2) VWF и, таким образом, позволяет диагностировать различные типы болезни Виллебранда (БВ).¹⁻² Если результат определения VWF:Ag очень низок или находится ниже предела обнаружения, можно ожидать наличие БВ 3 типа. При умеренном снижении и даже нормальном уровне VWF:Ag следует измерить активность VWF и уровень FVIII, и сравнить полученные результаты с результатом VWF:Ag. Если результаты всех трех анализов находятся в пределах нормы, БВ и гемофилия А могут быть исключены. Если хотя бы один из параметров патологически низок, необходимо рассчитать отношения WVF Активность / VWF:Ag и FVIII / VWF:Ag. Если оба отношения близки к 1 (ряд авторов предлагает значение cut-off =0,7), можно диагностировать БВ 1 типа.¹⁻² При низком отношении WVF Активность / VWF:Ag также предложено использовать значение cut-off =0,7) может быть диагностирована БВ типа 2А, 2В или 2М. Эти подтипы БВ характеризуются нарушением структуры мультимеров и/или их измененной способностью связываться с тромбоцитами.¹⁻² Для дифференциации разных подтипов необходимо проводить дополнительные лабораторные исследования, такие как RIPA (Ristocetin Induced Platelet Aggregation = ристоцетин-зависимая скорость агрегации тромбоцитов), мультимерный анализ и анализ связывающей способности VWF.² Если отношение FVIII/VWF:Ag низкое (также предложено использовать значение cut-off =0,7), может быть диагностирована БВ тип 2N или гемофилия А, и для дифференциации диагноза необходимо проанализировать способность связывания БВ с FVIII. Набор Активность фактора Виллебранда предназначен для выполнения иммунотурбидиметрического анализа, усиленного латексными частицами, для количественного определения уровня активности VWF в плазме. Активность VWF определяют по нарастанию мутности раствора за счет агглютинации латексного реагента. Латексные частицы, покрытые специфическими анти-VWF моноклональными антителами, направленными против тромбоцитарного рецептора VWF (Гликопротеин Ib рецептора) взаимодействуют с VWF исследуемой плазмы. Степень агглютинации прямо пропорциональна активности VWF образце и оценивается по уменьшению светопропускания образца, вызванного образованием агрегатов.

Состав набора

Набор **Активность фактора Виллебранда** состоит из:

[R] Латексный реагент (кат. № 0020004710): 2 флакона х 4,5 мл лиофилизированной суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых очищенными анти-VWF мышинными моноклональными антителами против функциональных эпитопов VWF в буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консерванта.

[B] Буфер (кат. № 0020004720): 2 флакона х 4,5мл Трис буфера с добавлением БСА, стабилизаторов и консерванта.

Меры предосторожности

Класс опасности: отсутствует

Характеристики опасности: отсутствуют

Меры предосторожности: отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

Латексный реагент: до 3% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Буфер: До 2,1% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания). Буфер содержит менее 0,1% азида натрия, который может содержать взрывоопасные азиды на лабораторной сантехнике. Используйте надлежащие процедуры утилизации

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Подготовка

Буфер: Реагент готов к использованию.

Латексный реагент: Растворите содержимое флакона, целиком перелив буфер из одного флакона в другой с латексным реагентом. Закройте флакон крышкой и аккуратно перемешивайте не менее 20 секунд до полного растворения лиофилизированного латексного реагента. Убедитесь в полном перемешивании реагента. Он должен превратиться в гомогенную слегка молочную суспензию. Выдержите раствор 30 минут при температуре 15 - 25°C, перед использованием аккуратно перемешайте. Не встряхивайте.

Примечание: Не допускайте пенообразования при перемешивании реагентов. Пузыри на поверхности жидкости могут повлиять на жидкостные датчики прибора.

Стабильность реагентов и хранение

Невыскранные реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе, при температуре 2-8°C

Латексный реагент – стабильность после разведения: 1 месяц при температуре 2-8°C в оригинальных флаконах, 3 дня при 15°C на борту коагулометров ACL® Elite/Elite Pro/8/9/10000 или 5 дней на борту ACL TOP™. Не замораживать.

Для сохранения стабильности реагентов изымайте их из прибора и храните в оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.

Методика исследования/работа на инструменте

Обратитесь к соответствующим инструкциям «Руководства по эксплуатации прибора» и/или «Руководства по применению методов» для получения полной информации о проведении исследования.

Сбор и подготовка образцов

Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата. Дальнейшая подготовка и хранение образца осуществляются согласно международной инструкции CLSI (ранее NCCLS) H21-A4.³ Замороженные образцы следует быстро разморозить при 37°C и аккуратно перемешать перед проведением тестирования. После размораживания анализ должен быть выполнен в течение 2 часов.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть заказаны отдельно:

	Америки и Тихоокеанский регион Кат. №	Европа Кат. №
Калибровочная плазма	0020003700	0020003700
Нормальный контроль	0020003120	0020003110
Специальный контроль ур.1	0020011000	0020011000
Разбавитель факторов	0009757620	0009757600

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать нормальный и патологический контроли.⁴ Для контроля качества разработаны Нормальный контроль и Специальный контроль, уровень 1. Каждая лаборатория должна установить собственные среднее значение и стандартное отклонение, и разработать программу контроля качества для мониторинга качества лабораторных исследований. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. Для оценки результатов и принятия решений в случае выхода результатов за допустимые пределы, следуйте правилам Вестгарда (Westgard et al).⁵

Результаты

Результаты определения активности VWF отображаются в % от нормы. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. При установлении диагноза вместе с результатами анализа необходимо учитывать и другую информацию, в том числе, клиническую картину.

Ограничения/интерферирующие вещества

На результаты определения активности VWF на приборах ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000 не оказывает влияния билирубин до 3,8 мг/дл и липиды до 265 мг/дл. Присутствие ревматоидного фактора может привести к завышению результата анализа. Гемолизированные и мутные образцы анализу не подлежат

На результаты определения активности VWF на коагулометрах ACL TOP не оказывает влияния гемоглобин до 70 мг/дл, билирубин до 4,2 мг/дл, триглицериды до 1020 мг/дл и ревматоидный фактор до 200 МЕ/мл.

Образцы пациентов, получавших препараты, содержащие мышинные моноклональные антитела для диагностики или лечения, могут содержать человеческие анти-мышинные антитела (НАМА). Присутствие НАМА в образцах может приводить к завышению результатов тестирований, использующих моноклональные мышинные антитела. Для минимизации такого влияния буфер в наборе Активность фактора Виллебранда содержит блокирующие агенты, направленные против НАМА. Присутствие в пробе повышенного количества анти-бычих IgG антител (НАВИА) может приводить к завышению результата⁸. В таком случае для формирования диагноза результат теста должен анализироваться вместе с другой информацией, включая клиническую картину. Не используйте единичный тест для принятия решения о назначении/изменении терапии.

Ожидаемые значения

Диапазон нормальных значений определен при использовании набора для определения активности VWF.

Группы крови ABO ⁶	N	ACL ELITE/ELITE PRO/ 8/9/10000
-------------------------------	---	--------------------------------

О 122 38.0 - 125.2 %VWF актив.
A + B + AB 126 49.2 - 169.7%VWF актив.

В отдельном исследовании, проведенном на 266 индивидуальных образцах доноров банка крови были получены следующие результаты:

Группы крови ABO ⁷	N	ACL TOP
О	132	40,3 – 125,9 %VWF активности
A + B + AB	134	48,8 – 163,4 %VWF активности

Примечание: VWF является острофазным белком, и стресс, беременность и другие состояния влияют на его концентрацию в плазме крови, поэтому желательно повторить анализ, взяв образец крови в другой день.¹

Диапазоны были рассчитаны в соответствии с рекомендациями Международной Федерации по Клинической Химии (IFCC).⁷ Результаты были получены при использовании определенного лота реагентов. В силу наличия множества факторов, влияющих на результат, каждая лаборатория должна устанавливать свой собственный диапазон нормальных значений активности VWF.

Рабочие характеристики

Воспроизводимость:

Общая и внутрисерийная воспроизводимость (в разных сериях и в разные дни) оценивалась на основании многократных измерений.

ACL Elite/Elite Pro/ 8/9/10000	Среднее (% VWF актив.)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Нормальный контроль	79.6	2.7	4.9
Специальный контроль, ур. 1	49.8	4.6	9.0
Специальный контроль, ур. 2	27.7	7.5	8.7
ACL TOP	Среднее (% VWF актив.)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Нормальный контроль	102.4	2.6	3.4
Специальный контроль, ур. 1	68.4	3.5	6.3
Специальный контроль, ур. 2	30.3	6.5	8.0

Корреляция

Прибор	наклон	пересечение	г	Референтный метод
ACL Elite/Elite Pro 8/9/10000	0.832	4.782	0.972	Активность VWF ИФА
ACL TOP	0.988	2.288	0.995	Активность VWF на ACL Advance

Дополнительное клиническое сравнительное исследование (n=114) по сравнению методов определения Активности фактора Виллебранда на ACL 9000 и ритоцетин-кофакторной активности (VWF:RCo) на автоматическом оптическом коагулометре показал, что г = 0,950 и наклон кривой составил 0,841. Исследование воспроизводимости и корреляционный анализ проводились с использованием определенных лотов реагентов и контролей.

Предел обнаружения

Прибор	
ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	12 (% активности VWF)
ACL TOP	3,2 (%активности VWF)

Линейность

Прибор	Обычный тест (% активности VWF)	Повторный тест (% активности VWF)
ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000	21 - 200	—
ACL TOP	19 - 130	57 - 390

Если результат выходит за пределы диапазона линейности, образец следует вручную развести в соотношении 1:4 Разбавителем факторов (100 мкл образца + 300 мкл Разбавителя факторов) для приборов ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000 или 1:10 (50 мкл образца + 450 мкл Разбавителя факторов) для ACL TOP, и заново повторить стандартный тест. Полученный результат необходимо умножить на 4 или 10, соответственно, чтобы учесть разведение.

Эффект прозоны (при избытке антигена) не наблюдается до 700% на ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000, и до 1000% на ACL TOP.

ФАКТОР ВИЛЛЕБРАНДА АНТИГЕН HEMOSIL - 0020002300

Назначение

Автоматизированный латекс-усиленный иммуноанализ для количественного определения антигена Фактора Виллебранда (VWF:Ag) в человеческой цитратной плазме. Оптимизирован для работы на коагулометрах IL. Доказанная корреляция с ИФА-методом.

Принцип метода

Диагностика болезни Виллебранда, являющейся, вероятно, наиболее часто встречающейся причиной наследственной кровоточивости, требует проведения целого ряда специальных лабораторных тестов¹. Среди них определение VWF:Ag является неотъемлемой частью диагностического процесса и должно быть проведено каждому пациенту для постановки правильного диагноза¹. В зависимости от результатов лабораторных исследований болезнь Виллебранда классифицируется на тип 1 (наиболее часто встречаемая форма, 70 – 80 % случаев), тип 2 и тип 3 (от 1 до 3%)^{2,3}. Тип 1 характеризуется снижением количества фактора Виллебранда (VWF), хотя его структура и функциональность остаются в норме. При типе 3 VWF практически отсутствует в плазме. При типе 2 количество VWF в плазме может оставаться нормальным или быть слегка пониженным, но его структура и функциональность нарушаются. Далее тип 2 может быть подразделен на подтипы по результатам анализа мультимерной структуры VWF. Кроме описанных наследственных форм болезни Виллебранда сообщают о приобретенных формах, характеризующихся низкой скоростью синтеза VWF в результате наличия в крови аутоантител, а также при различных заболеваниях. С другой стороны, хронические или острые воспалительные заболевания, а также процессы, сопровождающиеся повреждением сосудистого эндотелия, приводят к патологически высоким концентрациям VWF.

Набор для определения VWF:Ag представляет собой иммунотурбидиметрический метод, усиленный латексными частицами, для определения количества VWF:Ag в плазме. Когда плазму, содержащую VWF:Ag, смешивают с латексным реагентом и реакционным буфером, входящим в набор, латексные частицы агглютинируют. Степень агглютинации прямо пропорциональна концентрации VWF:Ag и измеряется по уменьшению светопропускания образца при появлении агрегатов.

Состав набора

В набор **Фактор Виллебранда антиген** входит:

Латексный реагент (кат. 0020002310), жидкий, готов к использованию: 2 флакона x 3 мл суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых кроличьими поликлональными антителами против VWF, с добавлением БСА, буфера, стабилизатора и консерванта.

Буферный реагент (кат. 0020002320), жидкий, готов к использованию: 2 флакона x 4 мл буфера HEPES с добавлением БСА, буфера, стабилизатора и консерванта.

Меры предосторожности

Класс опасности: отсутствует

Характеристики опасности: отсутствуют

Меры предосторожности: отсутствуют

Дополнительная информация:

Реакционный буфер: до 4% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (оральной, дыхательной, кожной) для человека и водной среды обитания).

Все реагенты содержат азид натрия в концентрации менее 0,1%, который может формировать взрывоопасные азиды на лабораторной сантехнике. Используйте надлежащие протоколы утилизации.

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

Латексный реагент: Перемешайте, переворачивая флакон перед использованием.

Реакционный буфер: Перемешайте, переворачивая флакон перед использованием.

ПРИМЕЧАНИЕ: Не допускайте пенообразования при перемешивании реагентов. Пузырьки на поверхности жидкости могут повлиять на жидкостные датчики прибора.

Стабильность реагентов и хранение

Невскрытые реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе, при температуре 2-8°C.

Открытые реагенты стабильны в течение 3 месяцев при температуре 2-8°C в оригинальных флаконах или 1 неделю при 15°C на борту анализаторов ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000 и приборов семейства ACL TOP и ACL TOP 50-ой серии. Не замораживать.

Для оптимальной стабильности вынимайте реагенты из прибора и храните в холодильнике в оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.

Низкая относительная влажность сопряжена с повышенной скоростью испарения реагентов в открытых флаконах, что может снижать стабильность на борту. Для оптимальной стабильности реагентов на борту температура и влажность в лаборатории должны контролироваться.

Выполнение анализа

Обратитесь к соответствующим инструкциям «Руководства по эксплуатации прибора» и/или «Руководства по применению методов».

Сбор и подготовка образцов

Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата (3,2%). Дальнейшая подготовка и хранение образца проводятся согласно международной инструкции CLSI H21-A5⁶. Замороженные образцы необходимо размораживать при 37°C как минимум 15 минут и центрифугировать плазму перед анализом. Анализ необходимо выполнить в течение двух часов после размораживания.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть заказаны отдельно:

	Американский и Тихоокеанский регион Кат. №	Европа Кат. №
Калибровочная плазма	0020003700	0020003700
Нормальный контроль, аттестованный	0020003120	0020003110
Специальный контроль, уровень 1	0020011000	0020011000
Специальный контроль, уровень 2	0020012000	0020012000
Разбавитель факторов	0009757600	0009757600

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать нормальный и патологический контроли.⁷ Для контроля качества были разработаны нормальный контроль, специальный контроль, уровень 1 (содержит нормальный уровень VWF:Ag) и специальный контроль, уровень 2 (содержит патологический уровень VWF:Ag). Каждая лаборатория должна определить свои значения среднего отклонения и стандартной девиации, и выполнять программу контроля качества для мониторинга правильности выполнения лабораторных анализов. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы следуйте правила Вестгарда (Westgard et al)⁸.

Результаты

Результаты определения VWF:Ag отображаются в % от нормы. Время получения результата составляет менее 7 минут. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. Для установления диагноза результаты исследования должны рассматриваться в совокупности с другой информацией, в том числе, клиническую картину.

Ограничения метода / влияние других веществ

На результат определения VWF:Ag на анализаторах семейства ACL не оказывают влияния концентрации гемоглобина до 90 мг/дл, билирубина до 15 мг/дл и липиды до 750 мг/дл. Присутствие ревматоидного фактора может приводить к завышению результата.

На результаты теста VWF:Ag на анализаторах семейства ACL TOP не оказывают влияния концентрации гемоглобина до 120 мг/дл, билирубин до 14 мг/дл, триглицериды до 1500 мг/дл и ревматоидный фактор до 750 МЕ/мл.

Ожидаемые значения

Определение диапазон нормальных значений было проведено с использованием набора реагентов VWF:Ag на коагулометрах IL.

Тип крови ABO ⁹	N	Семейство ACL (% VWF: Ag)
O	58	41.1 – 125.9
A + B + AB	56	61.3 – 157.8

Эти результаты были получены при использовании нескольких лотов реагентов. Границы нормального диапазона (среднее + 2SD) были получены в результате анализа образцов плазмы 8XgQ-здоровых взрослых доноров из банка крови.

В другом исследовании на 252 образцах доноров банка крови были получены следующие результаты:

Тип крови ABO ⁹	Кол-во определений	Семейство ACL TOP (% VWF: Ag)
O	126	42.0 – 140.8
A + B + AB	126	66.1 – 176.3

Диапазоны были рассчитаны в соответствии с рекомендациями Международной Федерации по Клинической Химии (IFCC)¹⁰. Результаты были получены при использовании конкретных лотов реагентов. В силу наличия множества факторов, влияющих на результат, каждая лаборатория должна устанавливать свой собственный диапазон нормальных значений VWF:Ag.

Характеристики метода

Воспроизводимость

Воспроизводимость в пределах одной серии измерений и общая межсерийная воспроизводимость оценивались на основании многократных измерений.

Семейство ACL	Среднее (% VWF:Ag)	CV % (Внутри серии)	CV % (общий)
Нормальный контроль	105.0	1.3	1.6
Специальный контроль, уровень 1	80.8	1.3	2.2
Специальный контроль, уровень 2	33.7	2.2	3.9
Семейство ACL TOP	Среднее (% VWF:Ag)	CV % (Внутри серии)	CV % (общий)
Нормальный контроль	123.5	2.0	3.0
Специальный контроль, уровень 1	68.1	2.9	4.2
Специальный контроль, уровень 2	32.9	4.7	5.7

Корреляция

Система	наклон	пересечение	r	Метод сравнения
Семейство ACL	1.00	-2.2	0.996	VWF: Ag EIA
Семейство ACL TOP	0.97	2.2	0.995	VWF: Ag на ACL Advance

Исследование воспроизводимости и корреляционный анализ проводились с использованием конкретных лотов реагентов и контрольных материалов.

Пределы измерений

Система	
Семейство ACL	3.5 (% VWF: Ag)
Семейство ACL TOP / ACL TOP 50-й серии	2.2 (% VWF: Ag)

Линейность

Система	
Семейство ACL	10 – 150 (% VWF: Ag)
Семейство ACL TOP / ACL TOP 50-й серии	8.5 – 250 (% VWF: Ag)

Эффект прозоны отсутствует до 1600%.

Если результат выходит за пределы линейности, образец необходимо развести Разбавителем факторов в соотношении 1:4 (100 мкл образца + 300 мкл Разбавителя факторов) и проанализировать еще раз.

Эту процедуру необходимо повторить еще раз, если результат, в зависимости от прибора, превышает 600% или 1000% (коэффициент разведения 1:16). Полученный результат необходимо затем умножить на 4 или на 16 в зависимости от степени разведения. Приборы с функцией автоматического разведения выполняют разведение и пересчитывают конечный результат автоматически.

VWF: RCo HemosIL (Фактор Виллебранда RCo) – 0020300900

Назначение

Автоматизированный усовершенствованный латексный иммуноанализ для количественного определения ристоцетин кофакторной активности фактора Виллебранда в человеческой цитратной плазме. Оптимизирован для работы на коагулометрах Семейства ACL TOP.

Использование теста определения ристоцетин кофакторной активности фактора фон Виллебранда (Фактор Виллебранда RCo, VWF:RCo) предназначено для пациентов, у которых на основании клинических признаков подозревается болезнь Виллебранда.

Краткое описание и принцип

Базовый скрининг болезни Виллебранда (БВ) включает исследование на определение ристоцетин кофакторной активности фактора Виллебранда (vWF) для определения активности плазменного белка – фактора Виллебранда. В тесте VWF:RCo воспроизводится способность фактора Виллебранда взаимодействовать с одним из рецепторов тромбоцитов (комплекс гликопротеинов GPIb-IX-V) *in vitro* в присутствии ристоцетина.¹ Классический метод основывается на способности антибиотика ристоцетина вызывать агрегацию фиксированных формалином тромбоцитов в присутствии фактора Виллебранда; однако, данный тест обладает высокой межлабораторной вариабельностью в силу сложности проведения методики.²

Согласно клиническим рекомендациям измерение и сравнение уровня антигена фактора Виллебранда (VWF:Ag), активности фактора Виллебранда и фактора VIII (FVIII) в плазме позволяет дифференцировать количественные дефекты (тип 1 или тип 3) от качественных дефектов (тип 2) VWF и, таким образом, диагностировать различные типы болезни Виллебранда (БВ).^{1,2,3}

Если результат определения VWF:Ag очень низок или находится ниже предела обнаружения, можно заподозрить наличие БВ 3 типа. При умеренном снижении и даже нормальном уровне VWF:Ag следует измерить активность VWF и уровень FVIII, и сравнить полученные результаты с результатом VWF:Ag. Если результаты всех трех тестов находятся в пределах нормы, БВ и гемофилия А могут быть

исключены. Если хотя бы один из параметров патологически низок, необходимо рассчитать отношения $\frac{\text{WVF Активность}}{\text{VWF:Ag}}$ и $\frac{\text{FVIII}}{\text{VWF:Ag}}$. Если оба отношения близки к 1 (ряд авторов

предлагает значение cut-off =0,7), можно диагностировать БВ 1 типа.^{1,3} При низком отношении $\frac{\text{WVF Активность}}{\text{VWF:Ag}}$ (также предложено использовать значение cut-off =0,7) может быть

диагностирована БВ типа 2А, 2В или 2М. Для дифференциации разных подтипов необходимо проводить дополнительные лабораторные исследования, такие как RIPA (Ristocetin Induced Platelet Aggregation = ристоцетин-зависимая скорость агрегации тромбоцитов), мультимерный анализ и анализ связывающей способности VWF.³ Если отношение FVIII/VWF:Ag низкое (также предложено использовать значение cut-off =0,7), может быть диагностирована БВ тип 2N или гемофилия А, и для дифференциации диагноза необходимо проанализировать способность связывания БВ с FVIII.

Набор Фактор Виллебранда Rco предназначен для выполнения иммунотурбидиметрического анализа, усиленного латексными частицами, для количественного определения уровня активности VWF:Rco в цитратной плазме. Активность VWF определяют по нарастанию мутности раствора за счет агглютинации латексного реагента. Рекомбинантные фрагменты гликопротеинового рецептора VWF тромбоцитов (rGP1ba) нанесены на латексные частицы с помощью специфических моноклональных антител, ориентирующих rGP1ba надлежащим образом для наилучшего взаимодействия с VWF в образце пациента в присутствии ристоцетина.^{4,5} Степень агглютинации прямо пропорциональна активности VWF в образце и оценивается по уменьшению светопропускания в процессе образования агрегатов.

Состав набора

Набор Фактор Виллебранда Rco включает:

R Латексный реагент (Кат. № 0020300910): 2 флакона х 2 мл лиофилизированной суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых рекомбинантными фрагментами гликопротеинового рецептора VWF тромбоцитов (rGP1ba) с помощью специфических моноклональных антител. Содержит БСА, буфер, стабилизаторы и консерванты.

Rco Ристоцетин (Кат. № 0020300920): 2 флакона х 1.6 мл ристоцетин сульфата, гликопротеинового антибиотика, выделенного из *Nocardia lurida* в водном кислом растворе.

B Буфер (Кат. № 0020300930): 2 флакона х 4 мл Трис буфера, содержащего БСА, стабилизаторы и консервант.

D Дилуент (Кат. № 0020300940): 2 флакона х 3.6 мл соленого раствора, содержащего БСА, стабилизаторы и консервант.

Меры предосторожности

Латексный реагент, буфер и дилуент содержат вещества, полученные из крупного рогатого скота. Все животные-доноры были отобраны из стада, свободного от губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота. Прижизненное и post-mortem ветеринарные обследования не выявили признаков инфекционных и контагиозных заболеваний. Тем не менее, с материалом следует обращаться, как с потенциально инфицированным.

Латексный реагент, буфер и дилуент не классифицированы как опасные вещества.

Буфер



Предупреждение

Класс опасности: Раздраж. глаз. 2, H319

Характеристики опасности: H319: Вызывает серьезное раздражение глаз

Меры предосторожности: P264: Тщательно вымойте руки после работы с реагентом. P280: Используйте защитную одежду/ защитные перчатки / защиту для глаз / защиту для лица. P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Промойте глаза большим количеством воды в течение нескольких минут. Снимите контактные линзы, если пользуетесь ими, и если это легко сделать. Продолжите промывание глаз. P337+P313: Если раздражение глаз сохраняется: обратитесь за медицинской помощью.

Дополнительная информация об опасности:

Латексный реагент / Ристоцетин: Отсутствует

Буфер: EUN210: Паспорт безопасности предоставляется по запросу. До 4,9% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Дилюент: До 4,8% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Продукт предназначен только для in vitro диагностики.

Подготовка

Латексный реагент: Переверните несколько раз перед использованием для перемешивания.

Ристоцетин: Переверните несколько раз перед использованием для перемешивания.

Буфер: Переверните несколько раз перед использованием для перемешивания

Дилюент: Переверните несколько раз перед использованием для перемешивания.

Примечание: Не допускайте пенообразования при перемешивании реагентов. Пузыри на поверхности жидкости могут повлиять на жидкостные датчики прибора.

Стабильность и хранение реагентов

Невскрытые реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе, при температуре 2- 8°C.

После вскрытия реагенты стабильны 2 месяца при температуре 2-8°C в оригинальных флаконах или 24 часа при непрерывном нахождении на борту анализаторов Семейства ACL TOP при температуре 15°C.

Когда реагенты используются в течение 4 часов на борту во время рабочей сессии, а после нее хранятся в холодильнике при температуре 2-8°C в закрытых флаконах, общее время стабильности реагентов на борту составляет 12 часов. Это общее время нахождения реагентов на борту в исследовании стабильности было распределено в течение 6 рабочих дней.

Когда реагенты используются в течение 2 часов на борту во время рабочей сессии, а после нее хранятся в холодильнике при температуре 2-8°C в закрытых флаконах, общее время стабильности реагентов на борту составляет 10 часов. Это общее время нахождения реагентов на борту в исследовании стабильности было распределено в течение 11 рабочих дней.

Не замораживать.

Для оптимальной стабильности изымайте реагенты из прибора и храните при температуре 2-8°C в оригинальных флаконах.

Методика исследования/работа с инструментом

Обратитесь к соответствующим инструкциям «Руководства по эксплуатации прибора» и/или «Руководства по применению методов» .

Сбор и подготовка образцов

Для получения информации по сбору образцов, их подготовке и хранению обратитесь к инструкции CLSI H21-A4.⁶

Замороженные образцы следует быстро разморозить при 37°C и при необходимости отцентрифугировать. Аккуратно перемешайте перед тестированием. После размораживания анализ проб должен быть выполнен в течение 2 часов.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

	Америки и Тихоокеанский рубеж Кат. №	Европа Кат. №
Калибровочная плазма	0020003700	0020003700
Нормальный контроль, аттестованный	0020003120	0020003110
Специальный контроль, уровень 1	0020011000	0020011000
Специальный контроль, уровень 2	0020012000	0020012000

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать нормальный и патологический контроли.⁷ Для контроля качества разработаны нормальный контроль, Специальный контроль, уровень 1 (нормальный уровень vWF:Rco) и Специальный контроль, уровень 2 (патологический уровень vWF:Rco). Каждая лаборатория должна установить собственные среднее значение и стандартное отклонение, и разработать программу контроля качества лабораторных тестирований. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами лабораторных исследований. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы, следуйте правилу Вестгарда (Westgard et al).⁸

Результаты

Результаты определения активности VWF:Rco отображаются в % от нормы. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. Для постановки диагноза вместе с результатами анализа необходимо учитывать и другую информацию, в том числе, клиническую картину.

Ограничения/интерферирующие вещества

На результаты определения активности VWF:Rco на приборах ACL TOP не оказывает влияния гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл и липиды до 1300 мг/дл. Присутствие ревматоидного фактора может привести к завышению результата исследования. Образцы пациентов, принимавших препараты, содержащие мышинные моноклональные антитела для диагностики или лечения, могут содержать человеческие анти-мышинные антитела (НАМА). Присутствие НАМА в образцах может приводить к завышению результатов тестирований, использующих моноклональные мышинные антитела. Для

минимизации такого влияния реагенты для определения VWF:Rco содержат блокирующие агенты, направленные против НАМА.

Ожидаемые значения

Диапазон нормальных значений был определен с использованием реагентов VWF:Rco.

Группа крови ABO ⁹	N	Семейство ACL TOP (% VWF:Rco активности)
O	124	48,2 – 201,9
A + B + AB	140	60,8 – 239,8

Данные результаты были получены при использовании определенных лотов реагентов. В силу наличия множества причин, влияющих на результат, каждая лаборатория должна определить собственный диапазон нормальных значений.

Рабочие характеристики

Воспроизводимость:

Воспроизводимость оценивалась в соответствии с документом CLSI EP05-A2¹⁰ в течение 20 дней, по 2 серии в день в двух повторах для каждого уровня образцов (n = 80 / инструмент / лот). Ниже представлены результаты определения внутрисерийной воспроизводимости, а также общей точности результатов.

Семейство ACL TOP		Среднее (% VWF:Rco)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
Нормальный аттестованный контроль,		112	5,1	5,5
Специальный уровень 1 контроль,		72	6,6	6,9
Специальный уровень 2 контроль,		26	6,1	6,8

Корреляция

Система	Наклон	Пересечение	r	Метод сравнения
Семейство ACL TOP	1,02	-0,99	0,977	Активность фактора Виллебранда

Исследование воспроизводимости и корреляционный анализ проводились с использованием определенных лотов реагентов и контролей.

В полевых исследованиях при использовании определенных лотов реагентов Фактор Виллебранда Rco были получены следующие результаты:

Система	Наклон	Пересечение	r	Метод сравнения
Семейство ACL TOP	1,06	0,71	0,96	Активность фактора Виллебранда
Семейство ACL TOP	1,08	1,20	0,96	Активность фактора Виллебранда

Предел обнаружения

Система	
Семейство ACL TOP	4,4 (% VWF:Rco)

Линейность

Система	Обычный тест (% VWF:Rco)	Тест с разведением (% VWF:Rco)
Семейство ACL TOP	7,0 – 120,0	7,0 – 480,0

Эффект прозоны для данной методики не наблюдается до 1300%.

Если результат выходит за пределы диапазона линейности (Обычный тест), образец следует вручную развести в соотношении 1:10 дилуентом, входящим в состав набора (40 мкл образца + 360 мкл дилуента), и повторить исследование. Полученный результат необходимо умножить на 10, чтобы учесть разведение.

HIT-Ab(PF4-H) HemosIL – 0020301200

Назначение

Полностью автоматизированный латексный усовершенствованный иммуноанализ. Предназначен для определения общего количества иммуноглобулинов, взаимодействующих с тромбоцитарным фактором 4 (PF4) в комплексе с гепарином в человеческой цитратной плазме на коагулометрах серии ACL TOP®. Связанные с присутствием гепарина антитела обычно обнаруживаются у пациентов с гепарин-индуцированной тромбоцитопенией или тромбозами (ГИТ).

Краткое описание и принцип

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ) – нарушение, обусловленное наличием иммунных комплексов и являющееся причиной заболеваемости и смертности пациентов, принимающих гепариновую терапию. ГИТ считается парадоксальным заболеванием, поскольку антикоагулянты назначаются для предотвращения тромбоза. Однако основное клиническое проявление ГИТ – это повышенный риск развития венозного и/или артериального тромбоза. Подозрение на ГИТ появляется в том случае, если у пациентов, принимающих нефракционированный гепарин (НГ) или низкомолекулярные гепарины (НМГ) обнаруживается падение количества тромбоцитов более 50% от базового уровня обычно на 5 – 10 сутки после начала антикоагулянтной терапии. Также имеются сообщения о случаях раннего начала ГИТ и позднего начала ГИТ. Своевременная постановка диагноза очень важна, т.к. в случае подтверждения ГИТ гепариновая терапия должна быть приостановлена и заменена на использование альтернативных антикоагулянтов.

ГИТ тип II, иммуноаллергический тип, вызывается образованием тромбоцит-активирующих антител, направленных в основном против тромбоцитарного фактора 4, который состоит в комплексе с гепарином (PF4/H). Эти антитела и являются основной причиной развития тромбоза как венозного так и артериального. Современная рабочая гипотеза предполагает, что раннее представление PF4 комплексов, образование которых, возможно, инициировано эндогенными не-гепариновыми факторами, приводит к PF4 кластеризации и Т-клеточной стимуляции В-клеток к производству антител. В дальнейшем эти В-клетки снова транзиторно активируются при появлении PF4 кластеров, индуцированных гепариновой терапией. Развитие патологии в основном ассоциируется с гепарин-зависимыми антителами класса IgG. Однако у некоторых пациентов, включая и случаи тромбоцитарных осложнений, наблюдалось присутствие антител только IgM и/или IgA класса.

Тестирование антител к PF4/H в сочетании с клинической оценкой состояния пациента доказало высокую эффективность такого подхода при ведении пациентов с подозрением на ГИТ. В частности, отрицательный результат теста на антитела к PF4/H может служить основанием для принятия клинического решения об исключении диагноза ГИТ и продолжении гепариновой терапии. Слабоположительный результат теста на антитела к PF4/H может указывать на то, что антитела не являются тромбоцит-активирующими, тогда как высокоположительные результаты могут указывать на повышенный риск ГИТ. В обоих случаях для подтверждения рекомендуется проводить функциональный тест. До подтверждения или исключения диагноза должна быть проведена повторная клиническая оценка с учетом полученных результатов лабораторных тестов.

Набор HemosIL HIT-Ab(PF4-H) предназначен для выполнения латексного усовершенствованного иммунотурбидиметрического анализа и определения общего количества гепарин-связанных антител, обнаруживаемых у пациентов с диагнозом ГИТ. Поверхность латексных частиц покрыта моноклональными антителами, имитирующие ГИТ антитела человека. В присутствии PF4-фактора человеческих тромбоцитов, связанного в комплекс с поливинил сульфатом (ПВС), и исследуемой плазмы происходит конкурентная реакция агглютинации. Степень агглютинации обратно пропорциональна концентрации антител в образце и определяется по уменьшению светового потока через образец, вызванного образованием агрегатов.

Состав набора

Набор **HIT-Ab(PF4-H)** включает:

R **Латексный реагент** (Кат. № 0020301210): 2 флакона х 1,8 мл суспензии полистироловых латексных частиц, покрытых анти-PF4-гепарин антителами, в трис-буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консерванта.

S **Стабилизатор** (Кат. № 0020301220): 2 флакона х 3,2 мл фосфатного (PBS) буфера, содержащего БСА, стабилизаторы и консервант.

Com **Комплекс** (Кат. № 0020301230): 2 флакона х 0,8 мл раствора PF4-ПВС комплекса (комплекс PF4 факторов тромбоцитов человека с поливинил сульфатом) в фосфатном (PBS) буфере с БСА, стабилизаторами и консервантом. В качестве консерванта используется 0,02% Bronidox™.

C **Калибратор** (Кат. № 0020301240): 2 флакона х 1 мл моноклональных анти-PF4-гепарин антител в фосфатном (PBS) буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консерванта.

Меры предосторожности

Материал человеческого происхождения, используемый в данном наборе, был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2. Работайте как с потенциально инфекционным материалом.

Все реагенты, за исключением раствора комплексов, содержат азид натрия в концентрации менее 0,1%, который способен образовывать взрывоопасные соединения при контакте с металлическими частями трубопровода. Придерживайтесь установленных правил утилизации.

Латексный реагент, стабилизатор, раствор комплексов и калибратор содержат материал животного происхождения (бычий). Все животные-доноры взяты из стад, не пораженных BSE (коровьей губчатой энцефалопатией). Животные прошли инспекцию состояния здоровья ветеринаром (до и после забоя) и у них не было выявлено признаков инфекционных и контактных заболеваний. Тем не менее, с материалом следует обращаться как с потенциально инфекционным.

Латексный реагент, раствор комплексов и калибратор не классифицируются, как опасные.

- Класс опасности: отсутствует
- Код риска: отсутствует
- Код по безопасности: отсутствует
- Стабилизатор: отсутствует
- Класс опасности: Хп (Опасное)

- Код риска: Опасно при проглатывании (R22)
- Код безопасности: При проглатывании немедленно обратиться за медицинской помощью и предъявить упаковку или этикетку материала (S46)

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Подготовка

Латексный реагент: Осторожно переверните несколько раз перед использованием. Не встряхивайте. Избегайте пенообразования.

Стабилизатор: Осторожно переверните несколько раз перед использованием. Не встряхивайте. Избегайте пенообразования.

Комплекс: Осторожно переверните несколько раз перед использованием. Не встряхивайте. Избегайте пенообразования.

Калибратор: Осторожно переверните несколько раз перед использованием. Не встряхивайте. Избегайте пенообразования.

Примечание: Пузыри на поверхности жидкости могут повлиять на показания жидкостных датчиков прибора.

Стабильность реагентов и хранение

Невскрытые реагенты и калибраторы при хранении в холодильнике при 2-8°C стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке флакона.

Стабильность реагентов – Открытые реагенты стабильны 2 месяца при температуре 2–8°C в оригинальной флаконе или 36 часов непрерывного пребывания при 15°C на борту коагулометров ACL TOP. Если реагенты находятся на борту в течение 4 часов рабочей сессии и между сессиями хорошо закрытыми хранятся в холодильнике при 2–8°, то стабильность сохраняется до 20 часов общего времени пребывания на борту. Исследование общего времени пребывания на борту проводилось на протяжении 9 дней. Если реагенты находятся на борту в течение 2 часов рабочей сессии и между сессиями хорошо закрытыми хранятся в холодильнике при 2–8°, то стабильность сохраняется до 16 часов общего времени пребывания на борту. Исследование общего времени пребывания на борту проводилось на протяжении 15 дней. Реагенты не подлежат замораживанию.

Калибратор – используется немедленно после вскрытия. Открытый калибратор стабилен в течение 3 часов при 15 – 25°C на борту коагулометров ACL TOP.

Методика исследования/работа с инструментом

Обратитесь к соответствующим инструкциям «Руководства по эксплуатации прибора» и/или «Руководства по применению методов».

Сбор и подготовка образцов

Девять частей свежей венозной крови смешивают в пробирке с одной частью цитрата натрия. Дальнейшая подготовка и хранение образца согласно международной инструкции CLSI H21-A5.

Замороженные образцы быстро размораживают при 37°C и при необходимости центрифугируют. После размораживания образец должен быть проанализирован не позднее 2 часов.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть заказаны отдельно:

NemosIL HIT-Ab(PF4-H) контроли	0020013200
Фактор дилуэнт	0009757600

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать контроли двух уровней. Для контроля качества разработаны NemosIL HIT-Ab(PF4-H) контроли низкий и высокий. Каждая лаборатория должна установить свои среднее значение и стандартное отклонение и создать программу контроля качества для мониторинга лабораторного тестирования. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами лабораторных исследований. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы, следуйте правилам Вестгарда (Westgard et al).

Метрологическая прослеживаемость для калибровочных плазм и контрольных материалов

Указанные значения были получены путем многократных измерений на анализаторах ACL TOP с использованием специфических лотов реагентов и относительно собственного стандарта. Поскольку международный стандарт ГИТ в настоящее время не установлен, при исследовании популяции практически здоровых людей и пациентов с подозрением на ГИТ для обозначения результатов была принята условная единица измерения (Ед/мл).

Результаты

Результаты определения антител выражаются в Ед/мл (NemosIL HIT-Ab(PF4-H) условные единицы).

Диапазон теста:

Прибор	Автоповтор выкл	Автоповтор вкл
ACL TOP	0 – 5,7 Ед/мл	0 – 16 Ед/мл

При активированной функции выполнения повторного анализа, прибор автоматически выполняет разведение образца и коррекцию результата с учетом коэффициента разведения, расширяя таким образом диапазон измерения до 16 Ед/мл. Если результат превосходит расширенный диапазон, т.е. результат в образце выше 16 Ед/мл, образец следует вручную развести 1:10 фактор дилуэнт (50 мкл образца + 450 мкл фактор дилуэнта), повторить стандартный анализ и результат умножить на 10, чтобы учесть разведение. Хотя положительный результат, полученный в этом анализе, может указывать на присутствие гепарин-ассоциированных антител, положительный результат **НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ПОДТВЕРЖДЕНИЕМ** диагноза ГИТ. Некоторые пациенты могут иметь антитела к PF4 от природы.

Ограничения/интерферирующие вещества

На результаты определения HIT-Ab(PF4-H) антител на приборах ACL TOP не оказывает влияния гемоглобин до 495 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 250 мг/дл, ревматоидный фактор до 1000 МЕ/мл и антимышьиные антитела (НАМА) до 1 мкг/мл.

Образцы пациентов, получающих гепарин (либо НГ, либо НМГ) и не имеющих подозрения на ГИТ были протестированы методом NemosIL HIT-Ab(PF4-H). Для НМГ все 20 результатов были ниже рекомендованного значения cut-off в группе образцов с концентрацией гепарина в диапазоне 0,25 – 1,08 МЕ/мл. Для НГ два результата из двадцати двух были чуть выше значения cut-off в группе образцов с концентрацией гепарина в диапазоне 0,15 – 6,74 МЕ/мл. Однако дозозависимой корреляции между результатами ГИТ анализа и концентрацией НГ обнаружено не было.

Двадцать шесть образцов с диагнозом антифосфолипидный синдром (АФС) были протестированы методом NemosIL HIT-Ab(PF4-H). Во всех 26 образцах результат был отрицательным, что свидетельствует об отсутствии влияния АФС антител на результаты анализа.

Ожидаемые значения

В норме присутствия PF4/H антител у здоровых людей не ожидается. Для установления оптимального значения cut-off метода NemosIL HIT-Ab(PF4-H) на анализаторах ACL TOP была проведена серия исследований, описанных ниже.

Был протестирован 131 образец плазмы практически здоровых людей (доноров банка крови). 95% референтный интервал составил 0-0,6 Ед/мл. Плюс к этому была протестирована группа из 51 образца от пациентов, получавших гепарин (НГ и НМГ) и не имевших клинического подозрения на ГИТ. 95% референтный интервал в этой группе составил 0 – 1,2 Ед/мл.

Наконец, был проведен сравнительный анализ данного метода с методом высвобождения серотонина (SRA) на 66 образцах плазмы пациентов с подозрением на ГИТ (31 SRA положительных и 35 SRA отрицательных), позволивший установить по результатам ROC-анализа оптимальное значение cut-off – 1,0 Ед/мл (согласование 92,4%, ДИ (доверительный интервал)=83,2% - 97,5%). На основании этого исследования было установлено, что для образцов пациентов, получающих гепарин, **результат анализа NemosIL HIT-Ab(PF4-H), равный или превышающий 1,0 Ед/мл может означать присутствие ГИТ антител**. При постановке диагноза вместе с результатами анализа следует учитывать другую информацию, в т.ч. клиническую картину.

Рабочие характеристики

Воспроизводимость

Внутрисерийная (воспроизводимость) и общая (на одном приборе) точность оценивалась на основании многократных измерений.

	Среднее (Ед/мл)	CV% (внутри серии)	CV% (общий)
ACL TOP			
Низкий HIT-Ab(PF4-H) контроль	0,7	0,09 (SD)	0,11 (SD)
Высокий HIT-Ab(PF4-H) контроль	3,5	4,9	6,1

Слабоположительный HIT-Ab(PF4-H) образец	1,6	4,9	8,1
Высокоположительный HIT-Ab(PF4-H) образец	5,2	2,8	3,5
Очень высокоположительный HIT-Ab(PF4-H) образец	10,0	5,5	9,5

Специфический лот низкого контроля, протестированный в представленном выше исследовании точности, показал результат ниже значения cut-off.

Сравнение методов

Собственное сравнительное исследование метода с коммерческим ИФА методом было проведено на 257 замороженных образцах плазмы пациентов с подозрением на ГИТ.

Результаты представлены ниже и основаны на значении cut-off теста HIT-Ab(PF4-H) равном 1.0 Ед/мл.

	Результаты метода HIT-Ab(PF4-H)	
	+	-
Результаты	+ 85	14
ИФА метода	- 10	148

N	% со-позитив. (95%ДИ)	% со-негатив. (95%ДИ)	% согласования (95%ДИ)
257	85,9 % (77,4% – 92,0%)	93,7% (88,7% – 96,9%)	90,7% (86,4% – 93,9%)

Клинические исследования

Многоцентровое исследование было выполнено на базе трех больниц на 414 образцах. Результаты теста сравнивались с результатами коммерческого ИФА анализа.

Для исследования были взяты образцы пациентов, получавших гепарин, имевших симптомы ГИТ, и, вследствие этого, подозреваемых на ГИТ.

Представленные ниже результаты основаны на значении cut-off теста HIT-Ab(PF4-H) равном 1.0 Ед/мл

	Результаты метода HIT-Ab(PF4-H)	
	+	-
Результаты	+ 50	33
ИФА метода	- 18	313

Предикативный метод	N	% со-позитив. (95%ДИ)	% со-негатив. (95%ДИ)	% согласования (95%ДИ)
ИФА	414	60,2% (48,9% - 70,8%)	94,6% (91,5% - 96,7%)	87,7% (84,1% - 90,7%)

Исследование воспроизводимости, сравнение методов и клиническое исследование проводились с использованием определенных лотов реагентов и контролей.

Назначение

Полностью автоматизированный хемилюминесцентный иммунохимический метод полуколичественного определения антикардиолипиновых (aCL) IgG антител в человеческой цитратной плазме и сыворотке на анализаторе ACL AcuStar™ предназначен для помощи в диагностике тромботических нарушений, связанных с первичным и вторичным антифосфолипидным синдромом (АФС), в совокупности с результатами других лабораторных и клинических исследований

Принцип метода

Антикардиолипиновые (aCL) антитела принадлежат к гетерогенной группе антифосфолипидных (аФЛ) антител, которые направлены против анионных фосфолипидов и фосфолипид-белковых комплексов. Постоянно повышенный уровень аФЛ антител связывают с повышенным риском васкулярных тромбозов и акушерских осложнений. Эта зависимость известна как антифосфолипидный синдром, классификация предложена Harris в 1987г.¹ Методы определения aCL IgG и IgM антител, анти-β₂-гликопротеин-1 (анти- β₂GPI) IgG и IgM антител и волчаночных антикоагулянтов являются методами исследования аФЛ и описаны в обновленных международных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС в 2006 году на встрече в Сиднее (Австралия)^{2,3}. В методах определения и aCL и анти-β₂GPI используется нанесенный на твердую фазу человеческий β₂-гликопротеин-1 (β₂GPI). β₂-гликопротеин-1, известный также как апополипротеин H, представляет собой гликопротеин массой 44 кДа, состоящий из 5 доменов, которые находятся в плазме. Пятый домен содержит кластер положительно заряженных аминокислот, ответственных за связывание анионных фосфолипидов. Механизм узнавания aCL и анти-β₂GPI антифосфолипидными антителами молекулы β₂GPI не ясен. Для объяснения было предложено две основных теории; первая, известная как "теория димеризации" полагает, что для повышения авидности⁴ одно антитело должно связывать две молекулы β₂GPI,⁵ вторая, "теория скрытого эпитопа", полагает, что aCL и анти-β₂GPI антифосфолипид-связывающий эпитоп открывается только тогда, когда молекула β₂GPI связывается с отрицательно заряженной поверхностью или отрицательными молекулами, такими как кардиолипин^{5,6}. Этот эпитоп расположен в домене 1⁷.

HemosIL AcuStar метод определения антикардиолипиновых IgG представляет собой двухстадийный хемилюминесцентный метод иммунохимического анализа, в котором магнитные частицы, покрытые кардиолипином и человеческим очищенным β₂GPI, улавливают из образца в случае их присутствия aCL антифосфолипидные антитела. После инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляется реагент-трейсер, представляющий собой античеловеческие IgG антитела, меченые изоломином, который связывается с захваченными на частицах aCL IgG. После второй инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляются реагенты (триггеры), которые запускают люминесцентную реакцию, и испускаемый свет измеряется в относительных единицах свечения (RLU – relative light

units) оптической системой анализатора ACL AcuStar. Величина RLU прямо пропорциональна концентрации aCL IgG в образце.

Мастер-кривая для обработки полученных в системе ACL AcuStar данных анализа aCL IgG создается с помощью 4-параметрического логарифмического логистического метода (4PLC). Мастер-кривая устанавливается производителем для серии (лота) реагентов и считывается прибором с нанесенного на картридже штрих-кода. После измерения калибраторов мастер-кривая преобразуется в новую, прибор-специфичную 4PLC рабочую калибровочную кривую. Значения концентрации калибраторов включены в штрих-код, нанесенный на пробирки с калибраторами.

Состав набора

В набор aCL IgG (Антикардиолипин IgG) входит:

[R] aCL IgG картридж на 50 определений (Кат. 0009802005): в 1 картридж входит 1 флакон с суспензией магнитных частиц покрытых бычьим кардиолипином и человеческим очищенным β₂GPI, 1 флакон с реакционным буфером, 1 флакон с трейсером, состоящим из античеловеческих-IgG антител, меченых изоломином, и 1 флакон с разбавителем для образца, используемым для стандартного предварительного разведения образца и автоматического разведения при повторном анализе. Реагенты находятся в фосфатном либо боратном буфере, содержащем БСА, бычий кардиолипин, человеческий β₂GPI, мышинные моноклональные IgG, стабилизаторы и консерванты.

[C1] aCL IgG Калибратор 1 (Кат. 0009802006): 1 x 1мл штрих-кодированная пробирка растворенных в физиологическом растворе aCL IgG антител с добавлением фетальной бычьей сыворотки стабилизаторов и консервантов

[C2] aCL IgG Калибратор 2 (Кат. 0009802007): 1 x 1мл штрих-кодированная пробирка растворенных в физиологическом растворе aCL IgG антител с добавлением фетальной бычьей сыворотки стабилизаторов и консервантов.

Калибраторы связаны с определенным лотом реагентов и не могут быть использованы с другими лотами реагентов

Меры предосторожности

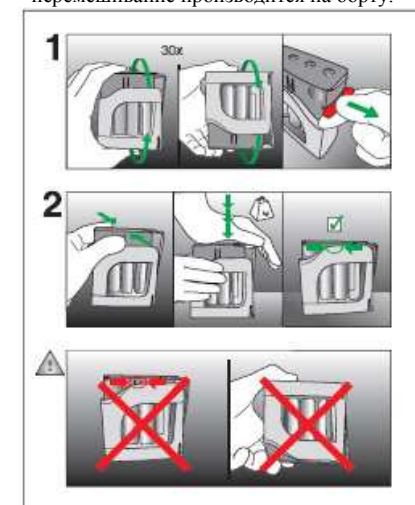
Материал человеческого происхождения для производства данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2 антител. Обращайтесь, как с потенциально инфекционным материалом. Все реагенты содержат азид натрия, который способен образовывать взрывоопасные соединения в металлических трубопроводах. Используйте надлежащие процедуры утилизации. Класс опасности: Отсутствует. Краткие характеристики опасности: Отсутствуют. Меры предосторожности: Отсутствуют. Дополнительная информация об опасности: aCL IgG картридж: Реагент с магнитными частицами: До 10,6% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания. Реагент-трейсер: До 5,1% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания. Буферный реагент и разбавитель образцов: отсутствуют. aCL IgG Калибратор 1/Калибратор 2: До 5% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания. Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

aCL IgG картридж: во время транспортировки и хранения микрочастицы оседают и для ресуспендирования их необходимо перемешивать.

Ред версия - 01/2011

- При первом использовании картриджа аккуратно переверните его 30 раз, избегая пенообразования.
- Проверьте полноту ресуспендирования микрочастиц. Если микрочастицы не полностью перешли в суспензию, продолжайте переворачивать картридж до полного ресуспендирования.
- Если микрочастицы не ресуспендируются, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ КАРТРИДЖ.
- После ресуспендирования поставьте картридж на твердую поверхность и аккуратно удалите красную защитную транспортировочную вкладку.
- Оставив картридж на твердой поверхности, сожмите два выступа на боку пробивающей крышки (серой части) и вдавите ее сверху в картридж, пока она не зафиксируется со щелчком. В фиксированном положении выступы не должны быть видны. **Не переворачивайте открытый картридж.**
- После установки картриджа в прибор периодическое дополнительное перемешивание производится на борту.



aCL IgG Калибраторы 1&2: находятся в жидком состоянии, и перед использованием их необходимо несколько раз аккуратно перевернуть, чтобы гомогенизировать содержимое. Избегайте пенообразования.

Примечание: не используйте набор при обнаружении какого-либо изменения внешнего вида компонентов или повреждения упаковки.

Стабильность реагентов и хранение

Невскрытые реагенты и калибраторы при хранении при температуре 2-8°C стабильны до истечения срока годности, указанного на картридже и пробирках.

aCL IgG картридж – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 6 недель.

aCL IgG Калибраторы 1&2 – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 3,5 часа

Для сохранения стабильности реагентов вынимайте их из прибора и храните в оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.

Выполнение анализа

Полную инструкцию по проведению анализа можно найти в «Руководстве по эксплуатации анализатора ACL AcuStar».

Сбор и подготовка образцов

Плазма: Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата. Дальнейшая подготовка и хранение образца описаны в международной инструкции CLSI (ранее NCCLS) H21-A5.⁹ Замороженная плазма должна быть быстро разморожена при 37°C. Анализ необходимо выполнить в течение двух часов после размораживания.

Сыворотка: после забора крови сыворотка должна быть отделена от сгустка. Следуйте рекомендациям CLSI H18-A3 по хранению образцов¹⁰. Перед анализом образцы с видимыми включениями следует центрифугировать.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

AcuStar антикардиолипин IgG контроли	Кат.№ 0009802104
--------------------------------------	------------------

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать два уровня контроля.¹¹ Для контроля качества разработаны низкий и высокий контроли aCL IgG. Каждая лаборатория должна установить свои собственные значения среднего и стандартной девиации, и выработать программу контроля качества для мониторинга лабораторного тестирования. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы следуйте правилам Вестгарда¹².

Прослеживаемость калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократных измерений на системе AcuStar с использованием определенных лотов реагентов и внутреннего стандарта. Следуя рекомендациям, выработанным на встрече в Сиднее² Международным комитетом по диагностике АФС, единицы измерения aCL IgG антител внутреннего стандарта были соотносены с единицами референтных химерных антител HCAL¹³.

Матрица образца

Методом aCL IgG анализировали двадцать одну пару цитратных образцов плазмы и сыворотки. Результаты определения концентрации aCL IgG сравнивали в регрессионном анализе Пассинга и Баблока, в качестве референтных значений (по оси X) используя значения, полученные на плазме, и коэффициент корреляции рассчитывали по методу Пирсона. Коэффициенты уравнивания - наклон и пересечение, составили соответственно 1.04 и -0.22, и корреляция (r) оказалась равна 1.000.

Результаты

Результаты определения aCL IgG отображаются в Ед/мл (в условных единицах IgG). Эти единицы установлены таким образом, что результат в 20 Ед/мл соответствует верхней границе нормального диапазона, определенного по результатам анализа 252

цитратных плазм из банка крови (99-й процентиль). 1 Ед/мл соответствует 16.3 нг/мл химерных антител HCAL. Это значение было получено путем ручного разведения химерных антител до 60 нг/мл фосфатным буфером, содержащим БСА. Образец был проанализирован как калибратор (без автоматического предразведения) на анализаторе ACL AcuStar, после чего результат был домножен на фактор разведения.

Примечание: Анализатор ACL AcuStar автоматически учитывает разницу в разведении образцов плазмы и сыворотки. Полученные результаты анализа сыворотки не нуждаются в дальнейшей коррекции с помощью коэффициента пересчета.

Дополнительную информацию можно найти в Руководстве по эксплуатации ACL AcuStar.

Ограничения метода/влияние других веществ

Окончательный клинический диагноз не может быть поставлен только на основании положительного результата определения aCL IgG без учета анамнеза и клинического обследования. При получении отрицательного результата и наличии клинических проявлений следует выполнить другие aФЛ исследования, рекомендованные в обновленных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС на встрече в 2006 году.² На результаты определения aCL IgG на приборах ACL AcuStar не оказывает влияния гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 1250 мг/дл, гепарин (HMG или HG) до 2 МЕ/мл и ревматоидный фактор до 500 МЕ/мл.

При изучении перекрестной реактивности в системе ACL AcuStar методом aCL IgG было проанализировано по 10 образцов, положительных по следующим показателям: ревматоидный фактор (РФ), антиядерные антитела (ANA) и сифилис (положительный экспресс тест на реакины плазмы, RPR).

Метод не проходил валидацию для педиатрических пациентов.

Группа образцов	N	N (положительных)	% aCL IgG положительных
РФ	10	0	0.0%
ANA	10	1	10.0%
RPR	10	0	0.0%

Ожидаемые результаты

Диапазон нормальных значений установлен по результатам анализа образцов цитратной плазмы здоровых взрослых доноров из банка крови с использованием реагентов и калибраторов aCL IgG метода на анализаторе ACL AcuStar. В соответствии с рекомендациями Международного комитета в Сиднее², пороговым значением для положительных результатов анализа aCL IgG антител был выбран 99-й процентиль.

Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (Ед/мл)
ACL AcuStar	252	20.0

В силу наличия множества факторов, которые могут повлиять на результат, каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон нормальных значений.

Характеристики метода

Все представленные результаты получены на образцах цитратной плазмы.

Воспроизводимость:

Воспроизводимость внутрисерийная и общая (в разных сериях и в разные дни) оценивалась на основании многократных измерений.

ACL AcuStar	Среднее (Ед/мл)	CV% (в серии)	CV% (общий)
Низкий aCL IgG контроль	16.4	6.8%	8.2%
Высокий aCL IgG контроль	158	6.1%	6.9%
aCL IgG образец А	13.8	4.0%	4.4%
aCL IgG образец В	19.1	3.7%	4.2%
aCL IgG образец С	47.2	4.8%	7.2%
aCL IgG образец D	515	3.7%	5.4%
aCL IgG образец E	1029	3.5%	6.7%

Клинические исследования

Практическое клиническое исследование было выполнено на 321 образцах замороженной цитратной плазмы. Исследованию были подвергнуты 6 различных групп плазм, включая плазмы пациентов с установленным по стандартным объективным критериям диагнозом первичного АФС (ПАФС), вторичного АФС (ВАФС), системной эритематозной волчанки (СЭВ), но не АФС- и СЭВ-подобного состояния. В пятую группу вошли пациенты с сердечно-сосудистыми нарушениями, но не относящиеся к предыдущим четырем группам. А также же была включена контрольная группа здоровых людей.

Представленные ниже результаты основаны на значении cut-off 20Ед/мл

Группа пациентов	N	N положительных	% положительных
ПАФС	23	13	56.5%
ВАФС	69	37	53.6%
СЭВ	115	9	7.8%
СЭВ-подобные	5	0	0.0%
Другие	6	1	16.7%
Контроль	103	0	0.0%

Принимая образцы группы пациентов с ПАФС и ВАФС за положительные, чувствительность и специфичность метода и общий % согласия составили:

Прибор	N	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Согласие (95% ДИ)
ACL AcuStar	321	54.3%(43.6%-64.8%)	95.6%(92.1%-97.9%)	83.8%(79.3%-87.7%)

Сравнение методов

В сравнении были использованы участвовавшие в клиническом исследовании образцы, результаты которых находились в диапазоне линейности сравниваемых методов. Образцы были проанализированы с использованием коммерческого набора FDA- сертифицированного ИФА метода. Ниже показан % положительных и отрицательных результатов и % согласия

НемосIL AcuStar aCL IgG	ИФА метод	
	Отрицательные	Положительные
Отрицательные	76	7
Положительные	25	28

Предикатив. устройство	N	% полож согласия (95% ДИ)	% отриц согласия (95% ДИ)	Общее согласие (95% ДИ)
ИФА метод	136	80.0% (63.1%-91.6%)	75.2% (65.7%-83.3%)	76.5% (68.4%-83.3%)

Исследование воспроизводимости, практическое клиническое и сравнительное исследования проводились с использованием определенных лотов реагентов и контролей.

Предел обнаружения**Прибор**

ACL AcuStar	2.6 Ед/мл
-------------	-----------

Линейность**Прибор**

ACL AcuStar	2.6 – 2024 Ед/мл
-------------	------------------

Если в приборе включена функция выполнения повторного анализа, то разведение образца и коррекция конечного результата с учетом фактора разбавления (20х) выполняется автоматически, и диапазон анализа расширяется до 40480 Ед/мл.

Эффект прозоны не оказывает влияния на анализ. По протоколу анализа после инкубации образца следует этап промывки, которая предотвращает появление эффекта прозоны. В клиническом исследовании образцы с концентрацией выше 2024 Ед/мл подвергались повторному тестированию.



Назначение

Полностью автоматизированный хемилюминесцентный иммунохимический метод полуколичественного определения антикардиолипиновых (aCL) IgM антител в человеческой цитратной плазме и сыворотке на анализаторе ACL AcuStar™ предназначен для помощи в диагностике тромботических нарушений, связанных с первичным и вторичным антифосфолипидным синдромом (АФС), в совокупности с результатами других лабораторных и клинических исследований

Принцип метода

Антикардиолипиновые (aCL) антитела принадлежат к гетерогенной группе антифосфолипидных (аФЛ) антител, которые направлены против анионных фосфолипидов и фосфолипид-белковых комплексов. Постоянно повышенный уровень аФЛ антител связывают с повышенным риском васкулярных тромбозов и акушерских осложнений. Эта зависимость известна как антифосфолипидный синдром, классификация предложена Harris в 1987г.¹ Методы определения aCL IgG и IgM антител, анти-β₂-гликопротеин-1 (анти-β₂GPI) IgG и IgM антител и волчаночных антикоагулянтов являются методами исследования аФЛ и описаны в обновленных международных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС в 2006 году на встрече в Сиднее (Австралия)^{2,3}. В методах определения и aCL и анти-β₂GPI используется нанесенный на твердую фазу человеческий β₂-гликопротеин-1 (β₂GPI). β₂-гликопротеин-1, известный также как апополипротеин H, представляет собой гликопротеин массой 44 кДа, состоящий из 5 доменов, которые находятся в плазме. Пятый домен содержит кластер положительно заряженных аминокислот, ответственных за связывание анионных фосфолипидов. Механизм узнавания aCL и анти-β₂GPI антифосфолипидными антителами молекулы β₂GPI не ясен. Для объяснения было предложено две основных теории; первая, известная как "теория димеризации" полагает, что для повышения авидности, одно антитело должно связывать две молекулы β₂GPI⁴, вторая, "теория скрытого эпитопа", полагает, что aCL и анти-β₂GPI антифосфолипид-связывающий эпитоп открывается только тогда, когда молекула β₂GPI связывается с отрицательно заряженной поверхностью или отрицательными молекулами, такими как кардиолипин^{5,6}. Этот эпитоп расположен в домене I⁷.

HemosIL AcuStar метод определения антикардиолипиновых IgM представляет собой двухстадийный хемилюминесцентный метод иммунохимического анализа, в котором магнитные частицы, покрытые кардиолипином и человеческим очищенным β₂GPI, улавливают из образца в случае их присутствия aCL антифосфолипидные антитела. После инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляется реагент-трейсер, представляющий собой античеловеческие IgM антитела, меченые изолюминолом, который связывается с захваченными на частицах aCL IgM. После второй инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляются реагенты (триггеры), которые запускают люминесцентную реакцию, и испускаемый свет измеряется в относительных единицах свечения (RLU – relative light

units) оптической системой анализатора ACL AcuStar. Величина RLU прямо пропорциональна концентрации aCL IgM в образце.

Мастер-кривая для обработки полученных в системе ACL AcuStar данных анализа aCL IgM создается с помощью 4-параметрического логарифмического логистического метода (4PLC). Мастер-кривая устанавливается производителем для серии (лота) реагентов и считывается прибором с нанесенного на картридже штрих-кода. После измерения калибраторов мастер-кривая преобразуется в новую, прибор-специфичную 4PLC рабочую калибровочную кривую. Значения концентрации калибраторов включены в штрих-код, нанесенный на пробирки с калибраторами.

Состав набора

В набор aCL IgM (Антикардиолипин IgM) входит:

[R] aCL IgM картридж на 50 определений (Кат. 0009802009): в 1 картридже входит 1 флакон с суспензией магнитных частиц покрытых бычьим кардиолипином и человеческим очищенным β₂GPI, 1 флакон с реакционным буфером, 1 флакон с трейсером, состоящим из античеловеческих-IgM антител, меченых изолюминолом, и 1 флакон с разбавителем для образца, используемым для стандартного предварительного разведения образца и автоматического разведения при повторном анализе. Реагенты находятся в фосфатном либо боратном буфере, содержащем БСА, бычий кардиолипин, человеческий β₂GPI, мышинные моноклональные IgM, стабилизаторы и консерванты.

[C1] aCL IgM Калибратор 1 (Кат. 0009802010): 1 x 1мл штрих-кодированная пробирка растворенных в физиологическом растворе aCL IgM антител с добавлением фетальной бычьей сыворотки, стабилизаторов и консервантов

[C2] aCL IgM Калибратор 2 (Кат. 0009802011): 1 x 1мл штрих-кодированная пробирка растворенных в физиологическом растворе aCL IgM антител с добавлением фетальной бычьей сыворотки стабилизаторов и консервантов.

Калибраторы связаны с определенным лотом реагентов и не могут быть использованы с другими лотами реагентов

Меры предосторожности

Материал человеческого происхождения для производства данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2 антител. Обращайтесь, как с потенциально

инфекционным материалом.
Все реагенты содержат 0,1% азид натрия, который способен образовывать взрывоопасные соединения в металлических трубопроводах. Используйте надлежащие процедуры утилизации.
Класс опасности: Отсутствует
Краткие характеристики опасности: Отсутствуют
Меры предосторожности: Отсутствуют
Дополнительная информация об опасности:
aCL IgM картридж:
Реагент с магнитными частицами: До 10,6% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.
Реагент-трейсер: До 5,1% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.
Буферный реагент и разбавитель образцов: отсутствуют
aCL IgM Калибратор 1/Калибратор 2: До 5% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания

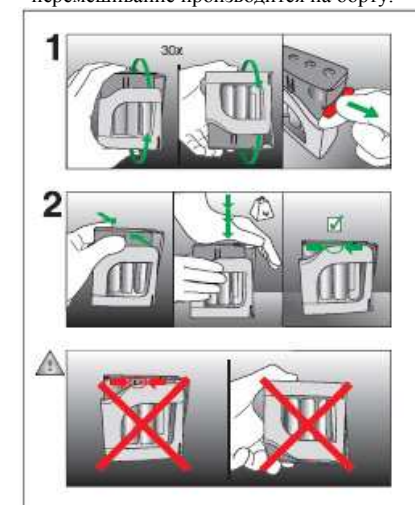
Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

aCL IgM картридж: во время транспортировки и хранения микрочастицы оседают и для ресуспендирования их необходимо перемешивать.

Ред версия - 12/2016

- При первом использовании картриджа аккуратно переверните его 30 раз, избегая пенообразования.
- Проверьте полноту ресуспендирования микрочастиц. Если микрочастицы не полностью перешли в суспензию, продолжайте переворачивать картридж до полного ресуспендирования.
- Если микрочастицы не ресуспендируются, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ КАРТРИДЖ.
- После ресуспендирования поставьте картридж на твердую поверхность и аккуратно удалите красную защитную транспортировочную вкладку.
- Оставив картридж на твердой поверхности, сожмите два выступа на боку пробивающей крышки (серой части) и вдавите ее сверху в картридж, пока она не зафиксируется со щелчком. В фиксированном положении выступы не должны быть видны. **Не переворачивайте открытый картридж.**
- После установки картриджа в прибор периодическое дополнительное перемешивание производится на борту.



aCL IgM Калибраторы 1&2: находятся в жидком состоянии, и перед использованием их необходимо несколько раз аккуратно перевернуть, чтобы гомогенизировать содержимое. Избегайте пенообразования.

Примечание: не используйте набор при обнаружении какого-либо изменения внешнего вида компонентов или повреждения упаковки.

Стабильность реагентов и хранение

Невскрытые реагенты и калибраторы при хранении при температуре 2-8°C стабильны до истечения срока годности, указанного на картридже и пробирках.

aCL IgM картридж – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 6 недель.

aCL IgM Калибраторы 1&2 – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 3,5 часа

Для сохранения стабильности реагентов вынимайте их из прибора и храните в оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.

Выполнение анализа

Полную инструкцию по проведению анализа можно найти в «Руководстве по эксплуатации анализатора ACL AcuStar».

Сбор и подготовка образцов

Плазма: Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата. Дальнейшая подготовка и хранение образца описаны в международной инструкции CLSI (ранее NCCLS) H21-A5.⁹ Замороженная плазма должна быть быстро разморожена при 37°C. Анализ необходимо выполнить в течение двух часов после размораживания.

Сыворотка: после забора крови сыворотка должна быть отделена от сгустка. Следуйте рекомендациям CLSI H18-A3 по хранению образцов¹⁰. Перед анализом образцы с видимыми включениями следует центрифугировать.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

AcuStar антикардиолипин IgM контроли Кат.№ 0009802108

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать два уровня контроля.¹¹ Для контроля качества разработаны низкий и высокий контроли aCL IgM. Каждая лаборатория должна установить свои собственные значения среднего и стандартной девиации, и выработать программу контроля качества для мониторинга лабораторного тестирования. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы следуйте правилам Вестгарда¹².

Прослеживаемость калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократных измерений на системе AcuStar с использованием определенных лотов реагентов и внутреннего стандарта. Следуя рекомендациям, выработанным на встрече в Сиднее² Международным комитетом по диагностике АФС, единицы измерения aCL IgM антител внутреннего стандарта были соотносены с единицами референтных химерных антител EY2C9⁹.

Матрица образца

Методом aCL IgM анализировали шестьдесят одну пару цитратных образцов плазмы и сыворотки. Результаты определения концентрации aCL IgM сравнивали в регрессионном анализе Пассинга и Баблока, в качестве референтных значений (по оси X) используя значения, полученные на плазме, и коэффициент корреляции рассчитывали по методу Пирсона. Коэффициенты уравнения - наклон и пересечение, составили соответственно 1.01 и 0,08, и корреляция (r) оказалась равна 0.999.

Результаты

Результаты определения aCL IgM отображаются в Ед/мл (в условных единицах IgM). Эти единицы установлены таким образом, что результат в 20 Ед/мл соответствует верхней границе нормального диапазона, определенного по результатам анализа 250

цитратных плазм из банка крови (99-й процентиль). 1 Ед/мл соответствует 65,1 нг/мл моноклональных антител EY2C9. Это значение было получено путем ручного разведения химерных антител до 80 нг/мл фосфатным буфером, содержащим БСА. Образец был проанализирован как калибратор (без автоматического предразведения) на анализаторе ACL AcuStar, после чего результат был домножен на фактор разведения.
Примечание: Анализатор ACL AcuStar автоматически учитывает разницу в разведении образцов плазмы и сыворотки. Полученные результаты анализа сыворотки не нуждаются в дальнейшей коррекции с помощью коэффициента пересчета.
Дополнительную информацию можно найти в Руководстве по эксплуатации ACL AcuStar.

Ограничения метода/влияние других веществ

Окончательный клинический диагноз не может быть поставлен только на основании положительного результата определения aCL IgM без учета анамнеза и клинического обследования. При получении отрицательного результата и наличии клинических проявлений следует выполнить другие aFL исследования, рекомендованные в обновленных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС на встрече в 2006 году². На результаты определения aCL IgM на приборах ACL AcuStar не оказывает влияния гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 1250 мг/дл, гепарин (НМГ или НГ) до 2 МЕ/мл и ревматоидный фактор до 500 МЕ/мл. При изучении перекрестной реактивности в системе ACL AcuStar методом aCL IgM было проанализировано по 10 образцов, положительных по следующим показателям: ревматоидный фактор (РФ), антиядерные антитела (ANA) и сифилис (положительный экспресс тест на реакины плазмы, RPR). Метод не проходил валидацию для педиатрических пациентов.

Группа образцов	N	N (положительных)	% aCL IgM положительных
РФ	10	0	0.0%
ANA	10	1	10.0%
RPR	10	0	0.0%

Ожидаемые результаты

Диапазон нормальных значений установлен по результатам анализа образцов цитратной плазмы здоровых взрослых доноров из банка крови с использованием реагентов и калибраторов aCL IgM метода на анализаторе ACL AcuStar. В соответствии с рекомендациями Международного комитета в Сиднее², пороговым значением для положительных результатов анализа aCL IgM антител был выбран 99-й процентиль.

Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (Ед/мл)
ACL AcuStar	252	20.0

В силу наличия множества факторов, которые могут повлиять на результат, каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон нормальных значений.

Характеристики метода

Все представленные результаты получены на образцах цитратной плазмы.

Воспроизводимость:

Воспроизводимость внутрисерийная и общая (в разных сериях и в разные дни) оценивалась на основании многократных измерений.

ACL AcuStar	Среднее (Ед/мл)	CV% (в серии)	CV% (общий)
Низкий aCL IgM контроль	6.79	3.3%	4.9%
Высокий aCL IgM контроль	86.1	3.5%	4.0%
aCL IgM образец A	14.7	3.0%	3.3%
aCL IgM образец B	19.2	2.6%	4.7%
aCL IgM образец C	19.5	2.6%	2.9%
aCL IgM образец D	207	3.6%	4.4%
aCL IgM образец E	556	6.8%	8.4%

Клинические исследования

Практическое клиническое исследование было выполнено на 321 образцах замороженной цитратной плазмы. Исследованию были подвергнуты 6 различных групп плазм, включая плазмы пациентов с установленным по стандартным объективным критериям диагнозом первичного АФС (ПАФС), вторичного АФС (ВАФС), системной эритематозной волчанки (СЭВ), но не АФС- и СЭВ-подобного состояния. В пятую группу вошли пациенты с сердечно-сосудистыми нарушениями, но не относящиеся к предыдущим четырем группам. А также же была включена контрольная группа здоровых людей.

Представленные ниже результаты основаны на значении cut-off 20Ед/мл

Группа пациентов	N	N положительных	% положительных
ПАФС	23	8	34.8%
ВАФС	69	23	33.3%
СЭВ	115	10	8.7%
СЭВ-подобные	5	0	0.0%
Другие	6	1	16.7%
Контроль	103	1	1.0%

Принимая образцы группы пациентов с ПАФС и ВАФС за положительные, чувствительность и специфичность метода и общий % согласия составили:

Прибор	N	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Согласие (95% ДИ)
ACL AcuStar 321	33.7%	(24.2%-44.3%)	94.8%(91.0%-97.3%)	77.3%(72.3%-81.7%)

Сравнение методов

В сравнении были использованы участвовавшие в клиническом исследовании образцы, результаты которых находились в диапазоне линейности сравниваемых методов. Образцы были проанализированы с использованием коммерческого набора FDA- сертифицированного ИФА метода. Ниже показан % положительных и отрицательных результатов и % согласия

HemosIL AcuStar aCL IgM	ИФА метод	
	Отрицательные	Положительные
Отрицательные	190	41
Положительные	4	32

Предикатив. устройство	N	% полож согласия (95% ДИ)	% отриц согласия (95% ДИ)	Общее согласие (95% ДИ)
------------------------	---	---------------------------	---------------------------	-------------------------

ИФА метод 267 43.8% (32.2%-55.9%) 97.9% (94.8%-99.4%) 83.1% (78.1%-87.4%)

Исследование воспроизводимости, практическое клиническое и сравнительное исследования проводились с использованием определенных лотов реагентов и контролей.

Предел обнаружения**Прибор**

ACL AcuStar	1.0 Ед/мл
-------------	-----------

Линейность**Прибор**

ACL AcuStar	1.0 – 774 Ед/мл
-------------	-----------------

Если в приборе включена функция выполнения повторного анализа, то разведение образца и коррекция конечного результата с учетом фактора разбавления (20х) выполняется автоматически, и диапазон анализа расширяется до 15480 Ед/мл.

Эффект прозоны не оказывает влияния на анализ. По протоколу анализа после инкубации образца следует этап промывки, которая предотвращает появление эффекта прозоны. В клиническом исследовании образцы с концентрацией выше 774 Ед/мл подвергались повторному тестированию.



Анти-β₂ Гликопротеин-I IgG - 0009802012

Назначение

Полностью автоматизированный хемилюминесцентный иммунохимический метод полуколичественного определения анти-β₂-гликопротеин-I (анти- β₂GPI) IgG антител в человеческой цитратной плазме и сыворотке на анализаторе ACL AcuStar™ предназначен для помощи в диагностике тромботических нарушений, связанных с первичным и вторичным антифосфолипидным синдромом (АФС), по совокупности с результатами других лабораторных и клинических исследований

Принцип метода

Анти-β₂-гликопротеин-I (анти- β₂GPI) антитела принадлежат к гетерогенной группе антифосфолипидных (аФЛ) антител, которые направлены против анионных фосфолипидов и фосфолипид-белковых комплексов. Постоянно повышенный уровень аФЛ антител связывают с повышенным риском васкулярных тромбозов и акушерских осложнений. Эта зависимость известна, как антифосфолипидный синдром, классификация предложена Harris в 1987г.¹ Методы определения анти-β₂-гликопротеин-I (анти- β₂GPI) IgG и IgM антител, антикардиолипина (aCL) IgG и IgM антител и волчаночных антикоагулянтов являются методами исследования аФЛ и описаны в обновленных международных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС в 2006 году на встрече в Сиднее (Австралия)^{2,3}. В методах определения и анти-β₂GPI и aCL используется нанесенный на твердую фазу человеческий β₂-гликопротеин-I (β₂GPI).

β₂-гликопротеин-I, известный также как аполипопротеин H, представляет собой гликопротеин массой 44 кДа, состоящий из 5 доменов, которые находятся в плазме. Пятый домен содержит кластер положительно заряженных аминокислот, ответственных за связывание анионных фосфолипидов. Механизм узнавания анти-β₂GPI и aCL антифосфолипидными антителами молекулы β₂GPI не ясен. Для объяснения было предложено две основных теории; первая, известная как "теория димеризации", полагает, что для повышения авидности одно антитело должно связывать две молекулы β₂GPI⁴, вторая, "теория скрытого эпитопа", полагает, что анти-β₂GPI и aCL антифосфолипид-связывающий эпитоп открывается только тогда, когда молекула β₂GPI связывается с отрицательно заряженной поверхностью или отрицательными молекулами, такими как кардиолипин^{1,6}. Этот эпитоп расположен в домене I⁷.

HemosIL AcuStar метод определения анти-β₂-гликопротеин-I IgG представляет собой двухстадийный хемилюминесцентный метод иммунохимического анализа, в котором магнитные частицы, покрытые кардиолипином и человеческим очищенным β₂GPI, улавливают из образца в случае их присутствия анти-β₂GPI антифосфолипидные антитела. После инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляется реагент-трейсер, представляющий собой античеловеческие-IgG антитела, меченые изоломиномом, который связывается с захваченными на частицах анти-β₂GPI IgG. После второй инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляются реагенты (триггеры), которые запускают люминесцентную реакцию, и

испускаемый свет измеряется в относительных единицах свечения (RLU – relative light units) оптической системой анализатора ACL AcuStar. Величина RLU прямо пропорциональна концентрации анти-β₂GPI IgG в образце.

Мастер-кривая для обработки полученных в системе ACL AcuStar данных анализа анти-β₂GPI IgG создается с помощью 4-параметрического логарифмического логистического метода (4PLC). Мастер-кривая устанавливается производителем для серии (лота) реагентов и считывается прибором с нанесенного на картридже штрих-кода. После измерения калибраторов мастер-кривая преобразуется в новую, прибор-специфичную 4PLC рабочую калибровочную кривую. Значения концентрации калибраторов включены в штрих-код, нанесенный на пробирки с калибраторами.

Состав набора

В набор анти-β₂GPI IgG входит:

[R] анти-β₂GPI IgG картридж на 50 определений (Кат. 0009802013): в 1 картридже входит 1 флакон с суспензией магнитных частиц, покрытых человеческим очищенным β₂GPI, 1 флакона с реакционным буфером, 1 флакон с трейсером, состоящим из античеловеческих IgG антител, меченых изоломиномом, и 1 флакон с разбавителем для образца, используемым для стандартного предварительного разведения образца и автоматического разведения при повторном анализе. Реагенты находятся в фосфатном или боратном буфере, содержащем БСА, человеческий β₂GPI, мышинные моноклональные IgG, стабилизаторы и консерванты. **[C1] анти-β₂GPI IgG Калибратор 1** (Кат. 0009802014): 1 x 1мл штрих-кодированная пробирка анти-β₂GPI IgG антител в фосфатном буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консервантов

[C2] анти-β₂GPI IgG Калибратор 2 (Кат. 0009802015): 1 x 1мл штрих- кодированная пробирка анти-β₂GPI IgG антител в фосфатном буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консервантов. Калибраторы связаны с определенным лотом реагентов и не могут быть использованы с другими лотами реагентов

Меры предосторожности

Материал человеческого происхождения для производства данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2 антител. Обращайтесь, как с потенциально инфекционным материалом.⁸ Все реагенты содержат аزيد натрия в концентрации менее 0,1%, который способен образовывать взрывоопасные соединения в металлических трубопроводах. Используйте надлежащие процедуры утилизации. Класс опасности: Отсутствует. Краткие характеристики опасности: Отсутствуют. Меры предосторожности: Отсутствуют. Дополнительная информация об опасности: Анти-β₂GPI IgG картридж: Реагент с магнитными частицами: До 10,3% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания. Буферный реагент и разбавитель образцов: отсутствуют. Анти-β₂GPI IgG Калибратор 1/Калибратор 2: Отсутствуют

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

Анти-β₂GPI IgG картридж: во время транспортировки и хранения микро-частицы оседают и для ресуспендирования их необходимо перемешивать. - При первом использовании картриджа аккуратно переверните его 30 раз, избегая пенообразования.

- Проверьте полноту ресуспендирования микрочастиц. Если микрочастицы не полностью перешли в суспензию, продолжайте переворачивать картридж до полного ресуспендирования.
 - Если микрочастицы не ресуспендируются, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ КАРТРИДЖ.
 - После ресуспендирования, поставьте картридж на твердую поверхность и аккуратно удалите красную защитную транспортировочную вкладку.
 - Оставив картридж на твердой поверхности, сожмите два выступа на боку пробивающей крышки (серой части) и вдавите ее сверху в картридж, пока она не зафиксируется со щелчком. В фиксированном положении выступы не должны быть видны. **Не переворачивайте открытый картридж.**
 - После установки картриджа в прибор периодическое дополнительное перемешивание производится на борту.
- анти-β₂GPI IgG Калибраторы 1&2:** находятся в жидком состоянии и перед использованием их необходимо несколько раз аккуратно перевернуть, чтобы гомогенизировать содержимое. Избегайте пенообразования.
- Примечание:** не используйте набор при обнаружении какого-либо изменения внешнего вида компонентов или повреждения упаковки.

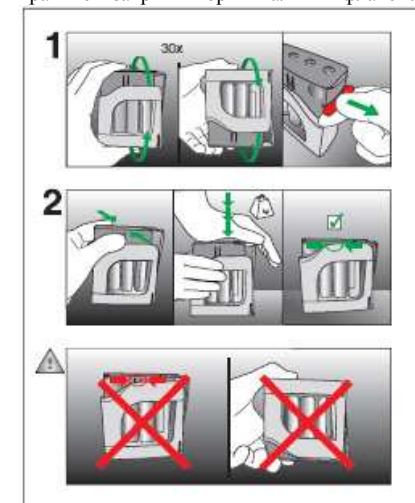
Стабильность реагентов и хранение

Невскрытые реагенты и калибраторы стабильны до истечения срока годности, указанного на картридже и пробирках, при температуре 2-8°C.

анти-β₂GPI IgG картридж – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 6 недель.

анти-β₂GPI IgG Калибраторы 1&2 – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 3,5 часа

Для сохранения стабильности реагентов вынимайте их из прибора и храните в закрытых оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.



Выполнение анализа

Полную инструкцию по проведению анализа можно найти в «Руководстве по эксплуатации анализатора ACL AcuStar».

Сбор и подготовка образцов

Плазма: Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата. Дальнейшая подготовка и хранение образца проводятся согласно международной инструкции CLSI (ранее NCCLS) H21-A5.⁹ Замороженная плазма должна быть быстро разморожена при 37°C. Анализ необходимо выполнить в течение двух часов после размораживания.

Сыворотка: после забора крови сыворотка должна быть отделена от сгустка. Следуйте рекомендациям CLSI H18-A3 по хранению образцов¹⁰. Перед анализом образцы с видимыми включениями следует центрифугировать.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

AcuStar анти-β₂-гликопротеин-I IgG контроли Кат. № 0009802112

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать два уровня контроля.¹¹ Для контроля качества разработаны низкий и высокий контроли анти-β₂GPI IgG. Каждая лаборатория должна установить свои собственные значения среднего и стандартной девиации и разработать программу контроля качества для мониторинга лабораторного тестирования. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы следуйте правилам Вестгарда¹².

Прослеживаемость калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократных измерений на системе AcuStar с использованием определенных лотов реагентов и внутреннего стандарта. Следуя рекомендациям, выработанным на встрече в Сиднее² Международным комитетом по диагностике АФС, единицы измерения анти-β₂GPI IgG антиген внутрифирменного стандарта были соотношены с единицами референтных химерных антиген HCAL¹³.

Матрица образца

Методом анти-β₂GPI IgG анализировали двадцать восемь пар цитратных образцов плазмы и сыворотки. Результаты определения концентрации анти-β₂GPI IgG сравнивали в регрессионном анализе Пассинга и Баблока, в качестве референтных значений (по оси X) используя значения плазмы, и коэффициент корреляции рассчитывали по методу Пирсона. Коэффициенты уравнения - наклон и пересечение, составили соответственно 1.00 и 1.25 и корреляция (r) составила 0.9999.

Результаты

Результаты определения анти-β₂GPI IgG отображаются в Ед/мл (в условных единицах IgG). Эти единицы установлены таким образом, что результат 20 Ед/мл соответствует верхней границе

нормального диапазона, определенного по результатам анализа 262 цитратных плазм из банка крови (99-й перцентиль). 1 Ед/мл соответствует 1.55 нг/мл химерных антиген HCAL. Это значение было получено путем ручного разведения химерных антиген до 80 нг/мл фосфатным буфером, содержащим БСА. Образец был проанализирован как калибратор (без автоматического преобразования) на анализаторе ACL AcuStar, после чего результат был домножен на фактор разведения.

Примечание: Анализатор ACL AcuStar автоматически учитывает разницу в разведении образцов плазмы и сыворотки. Полученные результаты анализа сыворотки не нуждаются в дальнейшей коррекции с помощью коэффициента пересчета. Дополнительную информацию можно найти в Руководстве по эксплуатации ACL AcuStar.

Ограничения метода/влияние других веществ

Окончательный клинический диагноз не может быть поставлен только на основании положительного результата определения анти-β₂GPI IgG без учета анамнеза и клинического обследования. При получении отрицательного результата и наличии клинических проявлений следует выполнить другие аФЛ исследования, рекомендованные в обновленных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС на встрече в 2006 году.²

На результаты определения анти-β₂GPI IgG на приборах ACL AcuStar не оказывает влияния гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 1250 мг/дл, гепарин (НМГ или НГ) до 2 МЕ/мл и ревматоидный фактор до 500 МЕ/мл.

При изучении перекрестной реактивности в системе ACL AcuStar методом анти-β₂GPI IgG было проанализировано по 10 образцов, положительных по следующим показателям: ревматоидный фактор (РФ), антиядерные антигена (ANA) и сифилис (положительный экспресс тест на реакины плазмы, RPR).

Метод не проходил валидацию для педиатрических пациентов.

Группа образцов	N	N (положительных)	% анти-β ₂ GPI IgG положительных
РФ	10	0	0.0%
ANA	10	2	20.0%
RPR	10	0	0.0%

Ожидаемые результаты

Диапазон нормальных значений установлен по результатам анализа образцов цитратной плазмы здоровых взрослых доноров из банка крови с использованием реагентов и калибраторов анти-β₂GPI IgG метода на анализаторе ACL AcuStar. В соответствии с рекомендациями Международного комитета в Сиднее², пороговым значением для положительных результатов анализа анти-β₂GPI IgG антиген был выбран результат по 99-му перцентилю.

Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (Ед/мл)
ACL AcuStar	262	20.0

В силу наличия множества факторов, которые могут повлиять на результат, каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон нормальных значений.

Характеристики метода

Все представленные результаты получены на образцах цитратной плазмы.

Воспроизводимость:

Воспроизводимость внутрисерийная и общая (в разных сериях и в разные дни) оценивалась на основании многократных измерений.

ACL AcuStar	Среднее (Ед/мл)	CV% (в серии)	CV% (общий)
Низкий анти-β ₂ GPI IgG контроль	19.1	7.8%	11.2%
Высокий анти-β ₂ GPI IgG контроль	429	3.0%	3.8%
анти-β ₂ GPI IgG образец А	14.7	6.9%	10.9%
анти-β ₂ GPI IgG образец В	20.9	4.7%	7.3%
анти-β ₂ GPI IgG образец С	58.1	3.2%	5.0%
анти-β ₂ GPI IgG образец D	508	2.5%	3.3%
анти-β ₂ GPI IgG образец E	1470	2.5%	3.7%
анти-β ₂ GPI IgG образец F	2694	3.7%	3.7%

Клинические исследования

Практическое клиническое исследование было выполнено на 321 замороженной цитратной плазме. Исследованию были подвергнуты 6 различных групп плазм, включающих плазмы пациентов с установленным по стандартным объективным критериям диагнозом первичного АФС (ПАФС), вторичного АФС (ВАФС), системной эритематозной волчанки (СЭВ), но не АФС и СЭВ-подобного состояния. В пятую группу вошли пациенты с сердечно-сосудистыми нарушениями, но не относящиеся к предыдущим четырем группам. А также же была включена контрольная группа практически здоровых людей.

Представленные ниже результаты основаны на значении cut-off 20Ед/мл

Группа пациентов	N	N положительных	% положительных
ПАФС	23	14	60.9%
ВАФС	69	45	65.2%
СЭВ	115	20	17.4%
СЭВ-подобные	5	0	0.0%
Другие	6	1	16.7%
Контроль	103	0	0.0%

Принимая образцы группы пациентов с ПАФС и ВАФС за положительные, чувствительность и специфичность метода и общий % согласия составили:

Прибор	N	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Согласие (95% ДИ)
ACL AcuStar	321	64.1%(53.5%-73.9%)	90.8%(86.3%-94.2%)	83.2%(78.6%-87.1%)

Сравнение методов

В сравнении были использованы участвовавшие в клиническом исследовании образцы, результаты которых находились в диапазоне линейности сравниваемых методов. Образцы были проанализированы с использованием коммерческого набора FDA- сертифицированного ИФА метода. Ниже показан % положительных и отрицательных результатов и % согласия

HemosIL AcuStar анти-β ₂ GPI IgG	ИФА метод	
	Отрицательные	Положительные
Отрицательные	80	0
Положительные	19	51

Предикатив. устройство	N	% полож согласия (95% ДИ)	% отриц согласия (95% ДИ)	Общее согласие (95% ДИ)
------------------------	---	---------------------------	---------------------------	-------------------------

ИФА метод 150 100.0% (93.0%-100.0%) 80.8% (71.7%-88.0%) 87.3% (80.9%-92.2%)

Исследование воспроизводимости, практическое клиническое и сравнительное исследования проводились с использованием определенных лотов реагентов и контролей.

Предел обнаружения**Прибор**

ACL AcuStar	6.4 Ед/мл
-------------	-----------

Линейность**Прибор**

ACL AcuStar	6.4 – 6100 Ед/мл
-------------	------------------

Если в приборе включена функция выполнения повторного анализа, то разведение образца и коррекция конечного результата с учетом фактора разбавления (20х) выполняется автоматически, и диапазон анализа расширяется до 122000 Ед/мл.

Эффект прозоны не оказывает влияния на анализ. По протоколу анализа после инкубации образца следует этап промывки, которая предотвращает появление эффекта прозоны. В клиническом исследовании образцы с концентрацией выше 6100 Ед/мл подвергались повторному тестированию.



Анти-β₂ Гликопротеин-I IgM - 0009802016

Назначение

Полностью автоматизированный хемилюминесцентный иммунохимический метод полуколичественного определения анти-β₂-гликопротеин-I (анти-β₂GPI) IgM антител в человеческой цитратной плазме и сыворотке на анализаторе ACL AcuStar™ предназначен для помощи в диагностике тромботических нарушений, связанных с первичным и вторичным антифосфолипидным синдромом (АФС), по совокупности с результатами других лабораторных и клинических исследований

Принцип метода

Анти-β₂-гликопротеин-I (анти-β₂GPI) антитела принадлежат к гетерогенной группе антифосфолипидных (аФЛ) антител, которые направлены против анионных фосфолипидов и фосфолипид-белковых комплексов. Постоянно повышенный уровень аФЛ антител связывают с повышенным риском васкулярных тромбозов и акушерских осложнений. Эта зависимость известна, как антифосфолипидный синдром, классификация предложена Harris в 1987г.¹ Методы определения анти-β₂-гликопротеин-I (анти-β₂GPI) IgG и IgM антител, антикардиолипин (aCL) IgG и IgM антител и волчаночных антикоагулянтов являются методами исследования аФЛ и описаны в обновленных международных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС в 2006 году на встрече в Сиднее (Австралия)^{2,3}. В методах определения и анти-β₂GPI и aCL используется нанесенный на твердую фазу человеческий β₂-гликопротеин-I (β₂GPI).

β₂-гликопротеин-I, известный также как аполипопротеин H, представляет собой гликопротеин массой 44 кДа, состоящий из 5 доменов, которые находятся в плазме. Пятый домен содержит кластер положительно заряженных аминокислот, ответственных за связывание анионных фосфолипидов. Механизм узнавания анти-β₂GPI и aCL антифосфолипидными антителами молекулы β₂GPI не ясен. Для объяснения было предложено две основных теории; первая, известная как "теория димеризации", полагает, что для повышения авидности одно антитело должно связывать две молекулы β₂GPI⁴, вторая, "теория скрытого эпитопа", полагает, что анти-β₂GPI и aCL антифосфолипид-связывающий эпитоп открывается только тогда, когда молекула β₂GPI связывается с отрицательно заряженной поверхностью или отрицательными молекулами, такими как кардиолипин^{5,6}. Этот эпитоп расположен в домене I⁷.

HemosIL AcuStar метод определения анти-β₂-гликопротеин-I IgM представляет собой двухстадийный хемилюминесцентный метод иммунохимического анализа, в котором магнитные частицы, покрытые кардиолипином и человеческим очищенным β₂GPI, улавливают из образца в случае их присутствия анти-β₂GPI антифосфолипидные антитела. После инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляется реагент-трейсер, представляющий собой античеловеческие-IgM антитела, меченые изоломиномом, который связывается с захваченными на частицах анти-β₂GPI IgM. После второй инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляются реагенты (триггеры), которые запускают люминесцентную реакцию, и

испускаемый свет измеряется в относительных единицах свечения (RLU – relative light units) оптической системой анализатора ACL AcuStar. Величина RLU прямо пропорциональна концентрации анти-β₂GPI IgM в образце.

Мастер-кривая для обработки полученных в системе ACL AcuStar данных анализа анти-β₂GPI IgM создается с помощью 4-параметрического логарифмического логистического метода (4PLC). Мастер-кривая устанавливается производителем для серии (лота) реагентов и считается прибором с нанесенного на картридже штрих-кода. После измерения калибраторов мастер-кривая преобразуется в новую, прибор-специфичную 4PLC рабочую калибровочную кривую. Значения концентрации калибраторов включены в штрих-код, нанесенный на пробирки с калибраторами.

Состав набора

В набор анти-β₂GPI IgM входит:

R анти-β₂GPI IgM картридж на 50 определений (Кат. 0009802017): в 1 картридж входит 1 флакон с суспензией магнитных частиц, покрытых человеческим очищенным β₂GPI, 1 флакона с реакционным буфером, 1 флакон с трейсером, состоящим из античеловеческих IgM антител, меченых изоломиномом, и 1 флакон с разбавителем для образца, используемым для стандартного предварительного разведения образца и автоматического разведения при повторном анализе. Реагенты находятся в фосфатном или боратном буфере, содержащем БСА, человеческий β₂GPI, мышинные моноклональные IgG, стабилизаторы и консерванты.

C1 анти-β₂GPI IgM Калибратор 1 (Кат. 0009802018): 1 x 1 мл штрих-кодированная пробирка анти-β₂GPI IgM антител в фосфатном буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консервантов

C2 Анти-β₂GPI IgM Калибратор 2 (Кат. 0009802019): 1 x 1 мл штрих-кодированная пробирка анти-β₂GPI IgM антител в фосфатном буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консервантов.

Калибраторы связаны с определенным лотом реагентов и не могут быть использованы с другими лотами реагентов

Меры предосторожности

Анти-β₂GPI IgM картридж: суспензия магнитных частиц, реакционный буфер, разбавитель образца
 Класс опасности: Отсутствует
 Характеристики опасности: Отсутствуют
 Меры предосторожности: Отсутствуют
 Дополнительная информация об опасности: Отсутствует
 Суспензия магнитных частиц: Отсутствует
 Реакционный буфер: До 2,4% смеси состоит из реагентов с неизвестной острой токсичностью (дыхательной) для здоровья человека.
 Разбавитель образца: Отсутствует
 Трейсер: Отсутствует

Предупреждение:
 Класс опасности: Специфическая токсичность для органов-мишеней при повторяющемся или длительном контакте, cat. 2
 Характеристики опасности: Может вызвать повреждение органов при повторяющемся или длительном контакте.
 Меры предосторожности: Не вдыхайте пары и аэрозоли. Обратитесь за медицинской помощью, если Ваше самочувствие неудовлетворительно.
 Утилизировать содержимое и упаковку в соответствии с действующими местными/региональными/национальными/международными стандартами.

Дополнительная информация об опасности: E1H210. Паспорт безопасности предоставляется по запросу
 Анти-β₂GPI IgM Калибратор 1 и Анти-β₂GPI IgM Калибратор 2:
 Класс опасности: Отсутствует
 Характеристики опасности: Отсутствуют
 Меры предосторожности: Отсутствуют
 Дополнительная информация об опасности: Отсутствует
 Анти-β₂GPI IgM картридж (реагент, буфер, трейсер), Анти-β₂GPI IgM Калибратор 1 и Анти-β₂GPI IgM Калибратор 2 содержат материалы человеческого происхождения, которые были протестированы на отсутствие антител к ВИЧ, поверхностному антигену гепатита В и Анти-НСУ. С данным продуктом, как и с любыми материалами, полученными от человека, необходимо обращаться в соответствии с действующими правилами работы в лаборатории для минимизации риска передачи инфекционных заболеваний.
 Анти-β₂GPI IgM картридж (реагент, буфер, трейсер), Анти-β₂GPI IgM Калибратор 1 и Анти-β₂GPI IgM Калибратор 2 содержат материалы животного происхождения, с которыми необходимо обращаться как с потенциально инфицированными. Содержат материалы, полученные от крупного рогатого скота. Все животные-доноры были отобраны из стада, не страдающего губчатой энцефалопатией крупного рогатого скота, и были обследованы ветеринаром до и после убоя. Обследование не выявило признаков инфекционных заболеваний, тем не менее, с данным материалом следует обращаться как с потенциально инфицированным.

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

Анти-β₂GPI IgM картридж: во время транспортировки и хранения микрочастицы оседают и для ресуспендирования их необходимо перемешивать.

- При первом использовании картриджа аккуратно переверните его 30 раз, избегая пенообразования

- Проверьте полноту ресуспендирования микрочастиц. Если микрочастицы не полностью перешли в суспензию, продолжайте переворачивать картридж до полного ресуспендирования.
- Если микрочастицы не ресуспендируются, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ КАРТРИДЖ.
- После ресуспендирования, поставьте картридж на твердую поверхность и аккуратно удалите красную защитную транспортировочную вкладку.
- Оставив картридж на твердой поверхности, сожмите два выступа на боку пробивающей крышки (серой части) и вдавите ее сверху в картридж, пока она не зафиксируется со щелчком. В фиксированном положении выступы не должны быть видны. **Не переворачивайте открытый картридж.**
- После установки картриджа в прибор периодическое дополнительное перемешивание производится на борту.

Анти-β₂GPI IgM Калибраторы 1&2: находятся в жидком состоянии и перед использованием их необходимо несколько раз аккуратно перевернуть, чтобы гомогенизировать содержимое. Избегайте пенообразования.

Примечание: не используйте набор при обнаружении какого-либо изменения внешнего вида компонентов или повреждения упаковки.

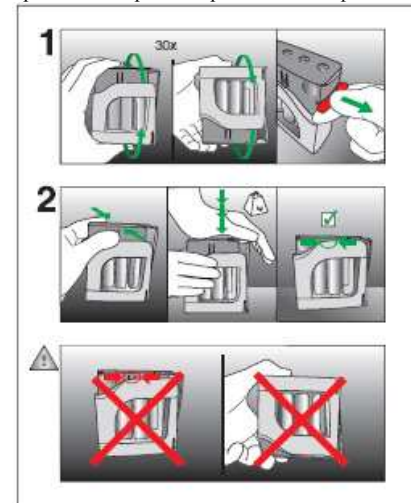
Стабильность реагентов и хранение

Невскрытые реагенты и калибраторы стабильны до истечения срока годности, указанного на картридже и пробирках, при температуре 2-8°C.

Анти-β₂GPI IgM картридж – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 6 недель.

Анти-β₂GPI IgM Калибраторы 1&2 – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 3,5 часа

Для сохранения стабильности реагентов вынимайте их из прибора и храните в закрытых оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.



Выполнение анализа

Полную инструкцию по проведению анализа можно найти в «Руководстве по эксплуатации анализатора ACL AcuStar».

Сбор и подготовка образцов

Плазма: Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата. Дальнейшая подготовка и хранение образца проводятся согласно международной инструкции CLSI (ранее NCCLS) H21-A5.⁹ Замороженная плазма должна быть быстро разморожена при 37°C. Анализ необходимо выполнить в течение двух часов после размораживания.

Сыворотка: после забора крови сыворотка должна быть отделена от сгустка. Следуйте рекомендациям CLSI H18-A3 по хранению образцов¹⁰. Перед анализом образцы с видимыми включениями следует центрифугировать.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно: AcuStar анти-β₂-гликопротеин-I IgM контроли Кат. № 0009802116

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать два уровня контроля.¹¹ Для контроля качества разработаны низкий и высокий контроли анти-β₂GPI IgM. Каждая лаборатория должна установить свои собственные значения среднего и стандартной девиации и разработать программу контроля качества для мониторинга лабораторного тестирования. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы следуйте правилам Вестгарда¹².

Прослеживаемость калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократных измерений на системе AcuStar с использованием определенных лотов реагентов и внутреннего стандарта. Следуя рекомендациям, выработанным на встрече в Сиднее² Международным комитетом по диагностике АФС, единицы измерения анти-β₂GPI IgM антител внутрифирменного стандарта были соотношены с единицами референтных химерных антител HCAI¹³.

Матрица образца

Методом анти-β₂GPI IgM анализировали двадцать восемь пар цитратных образцов плазмы и сыворотки. Результаты определения концентрации анти-β₂GPI IgM сравнивали в регрессионном анализе Пассинга и Баблока, в качестве референтных значений (по оси X) используя значения плазмы, и коэффициент корреляции рассчитывали по методу Пирсона. Коэффициенты уравнения - наклон и пересечение, составили соответственно 0.99 и 0.02, и корреляция (r) составила 0.996

Результаты

Результаты определения анти-β₂GPI IgM отображаются в Ед/мл (в условных единицах IgM). Эти единицы установлены таким образом, что результат 20 Ед/мл соответствует верхней границе

нормального диапазона, определенного по результатам анализа 250 цитратных плазм из банка крови (99-й процентиль). 1 Ед/мл соответствует 19.3 нг/мл моноклональных антител EY2C9. Это значение было получено путем ручного разведения химерных антител до 60 нг/мл фосфатным буфером, содержащим БСА. Образец был проанализирован как калибратор (без автоматического предразведения) на анализаторе ACL AcuStar, после чего результат был домножен на фактор разведения.

Примечание: Анализатор ACL AcuStar автоматически учитывает разницу в разведении образцов плазмы и сыворотки. Полученные результаты анализа сыворотки не нуждаются в дальнейшей коррекции с помощью коэффициента пересчета. Дополнительную информацию можно найти в Руководстве по эксплуатации ACL AcuStar.

Ограничения метода/влияние других веществ

Окончательный клинический диагноз не может быть поставлен только на основании положительного результата определения анти-β₂GPI IgM без учета анамнеза и клинического обследования. При получении отрицательного результата и наличии клинических проявлений следует выполнить другие аФЛ исследования, рекомендованные в обновленных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС на встрече в 2006 году.² На результаты определения анти-β₂GPI IgM на приборах ACL AcuStar не оказывает влияния гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 1250 мг/дл, гепарин (НМГ или НГ) до 2 МЕ/мл и ревматоидный фактор до 500 МЕ/мл. При интерпретации результата необходимо учесть возможную интерференцию с криоглобулином. При изучении перекрестной реактивности в системе ACL AcuStar методом анти-β₂GPI IgM было проанализировано по 10 образцов, положительных по следующим показателям: ревматоидный фактор (РФ), антиядерные антитела (ANA) и сифилис (положительный экспресс тест на реакины плазмы, RPR). Метод не проходил валидацию для педиатрических пациентов.

Группа образцов	N (положительных)		% анти-β ₂ GPI IgM положительных
РФ	10	0	0.0%
ANA	10	1	10.0%
RPR	10	0	0.0%

Ожидаемые результаты

Диапазон нормальных значений установлен по результатам анализа образцов цитратной плазмы здоровых взрослых доноров из банка крови с использованием реагентов и калибраторов анти-β₂GPI IgM метода на анализаторе ACL AcuStar. В соответствии с рекомендациями Международного комитета в Сиднее², пороговым значением для положительных результатов анализа анти-β₂GPI IgM антител был выбран результат по 99-му процентилю.

Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (Ед/мл)
ACL AcuStar	250	20.0

В силу наличия множества факторов, которые могут повлиять на результат, каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон нормальных значений.

Характеристики метода

Все представленные результаты получены на образцах цитратной плазмы.

Воспроизводимость:

Воспроизводимость внутрисерийная и общая (в разных сериях и в разные дни) оценивалась на основании многократных измерений.

ACL AcuStar	Среднее (Ед/мл)	CV% (в серии)	CV% (общий)
Низкий анти-β ₂ GPI IgM контроль	4.32	3.4%	6.4%
Высокий анти-β ₂ GPI IgM контроль	63.0	2.4%	4.3%
Анти-β ₂ GPI IgM образец А	11.0	3.6%	5.8%
Анти-β ₂ GPI IgM образец В	13.6	4.5%	8.3%
Анти-β ₂ GPI IgM образец С	16.3	2.7%	6.6%
Анти-β ₂ GPI IgM образец D	91.9	2.4%	5.7%
Анти-β ₂ GPI IgM образец E	302	3.0%	5.2%
Анти-β ₂ GPI IgM образец F	510	4.1%	6.0%

Клинические исследования

Практическое клиническое исследование было выполнено на 321 замороженной цитратной плазме. Исследованию были подвергнуты 6 различных групп плазм, включающих плазмы пациентов с установленным по стандартным объективным критериям диагнозом первичного АФС (ПАФС), вторичного АФС (ВАФС), системной эритематозной волчанки (СЭВ), но не АФС и СЭВ-подобного состояния. В пятую группу вошли пациенты с сердечно-сосудистыми нарушениями, но не относящиеся к предыдущим четырем группам. А также же была включена контрольная группа практически здоровых людей.

Представленные ниже результаты основаны на значении cut-off 20Ед/мл

Группа пациентов	N	N положительных	% положительных
ПАФС	23	7	30.4%
ВАФС	69	20	29.0%
СЭВ	115	10	8.7%
СЭВ-подобные	5	0	0.0%
Другие	6	1	16.7%
Контроль	103	0	0.0%

Принимая образцы группы пациентов с ПАФС и ВАФС за положительные, чувствительность и специфичность метода и общий % согласия составили:

Прибор	N	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Согласие (95% ДИ)
ACL AcuStar 321	29.3%(20.3%-39.8%)	95.2%(91.6%-97.6%)	76.3%(71.3%-80.9%)	

Сравнение методов

В сравнении были использованы участвовавшие в клиническом исследовании образцы, результаты которых находились в диапазоне линейности сравниваемых методов. Образцы были проанализированы с использованием коммерческого набора FDA- сертифицированного ИФА метода. Ниже показан % положительных и отрицательных результатов и % согласия

HemosIL AcuStar анти-β ₂ GPI IgM	ИФА метод	
	Отрицательные	Положительные
Отрицательные	153	17
Положительные	5	30

Предикатив. устройство	N	% полож согласия (95% ДИ)	% отриц согласия (95% ДИ)	Общее согласие (95% ДИ)
------------------------	---	---------------------------	---------------------------	-------------------------

ИФА метод 205 63.8% (48.5%-77.3%) 96.8% (92.8%-99.0%) 89.3% (84.2%-93.2%)

Исследование воспроизводимости, практическое клиническое и сравнительное исследования проводились с использованием определенных лотов реагентов и контролей.

Предел обнаружения

Прибор

ACL AcuStar	1.1 Ед/мл
-------------	-----------

Линейность

Прибор

ACL AcuStar	1.1 – 841 Ед/мл
-------------	-----------------

Если в приборе включена функция выполнения повторного анализа, то разведение образца и коррекция конечного результата с учетом фактора разбавления (20х) выполняется автоматически, и диапазон анализа расширяется до 16820 Ед/мл.

Эффект прозоны не оказывает влияния на анализ. По протоколу анализа после инкубации образца следует этап промывки, которая предотвращает появление эффекта прозоны. В клиническом исследовании образцы с концентрацией выше 841 Ед/мл подвергались повторному тестированию.



Назначение

ГемосИЛ АкуСтар Антиген фактора Виллебранда (ГемосИЛ АкуСтар VWF:Ag) – полностью автоматический хемилюминисцентный иммунологический анализ для количественного определения антигена фактора Виллебранда в цитратной плазме человека на анализаторе ACL AcuStar™. Исследование ГемосИЛ АкуСтар VWF:Ag предназначено для использования у пациентов с подозрением на болезнь Виллебранда согласно их клиническим признакам.

Описание и принцип

Основное обследование болезни Виллебранда (БВ) включает использование антигена фактора Виллебранда (VWF:Ag) для определения активности фактора Виллебранда в белке плазмы пациента.

Исследование ГемосИЛ АкуСтар VWF:Ag – двухэтапный иммунологический анализ для количественного определения активности VWF:Ag в цитратной плазме человека с использованием магнитных частиц в качестве твердой фазы и хемилюминесцентной системы обнаружения. На первом этапе образец, анти-VWF поликлональное антитело покрытое магнитными частицами и аналитический буфер смешиваются. На втором этапе после магнитного отделения и промывки анти-VWF моноклональное антитело меченое изолуминолом добавляется и проводится инкубация. После очередного магнитного отделения и промывки добавляются два триггерных агента и с помощью оптической системы ACL AcuStar измеряется соответствующая хемилиминисцентная реакция как относительная световая единица (ОСЕ). ОСЕ прямо пропорциональна активности концентрации VWF:Ag в образце.

Исследование ACL AcuStar VWF:Ag использует логистическую кривую с 4 параметрами с подходящим методом редукции данных для создания обобщающей кривой. Заданная обобщающая кривая зависит от лота и хранится в приборе благодаря картриджу со штрих кодом. С измерением калибраторов заданная обобщающая кривая трансформируется в новую логистическую кривую с 4 параметрами. Значения концентрации калибраторов указаны в штрих коде пластиковой пробирки калибратора.

Состав

Набор VWF:Ag состоит из:

R VWF:Ag Картридж для 25 исследований (кат.№ 0009802021): 1 картридж содержит: 1 виалу с суспензией магнитных частиц покрытых поликлональным антителом кролика к VWF:Ag; 1 виалу аналитического буфера; 1 виалу трассирующего вещества состоящего из поликлонального антитела кролика меченого изолуминолом; и 1 виалу дилуэнта образца используемого для регулярного предварительного разбавления образца и автоматического разбавления при повторном исследовании образца. Образцы находятся в фосфатном буфере содержащем бычий сывороточный альбумин, поликлональный IgG кролика, стабилизаторы и консервант.

C1 Калибратор 1 VWF:Ag (кат.№ 0009802022): 1x1 мл пластиковая пробирка со штрих кодом и соляным раствором, содержит консервант.

C2 Калибратор 2 VWF:Ag (кат.№ 0009802023): 2 виалы: 1x1 мл лиофилизированная плазма человека содержащая буфер, стабилизаторы и консервант и 1 VWF:Ag Калибратор 2 пластиковые пробирки со штрих кодом.

Калибраторы зависимы от лота и не могут быть использованы с реагентами других лотов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

AcuStar VWF:Ag Картридж содержит материал животного происхождения. Все животные доноры находились в стадах проверенных на отсутствие ГЭКРС. Всех животных

проверяли ветеринарные врачи на отсутствие инфекционного и заразного материала. Поэтому работать с ним следует как с потенциально инфекционным¹.

AcuStar VWF:Ag Калибратор 2 содержит материал человеческого происхождения, который был протестирован методами, одобренными FDA, с отрицательными результатами, на HBV поверхностный антиген, HCV и HIV1/2 антитела и поверхностный антиген гепатита В на донорской стадии.

С данным продуктом, как и с любым другим продуктом человеческого происхождения следует обращаться соблюдая правила лабораторной безопасности для минимизации риска переноса инфекционного заболевания.

Все реагенты содержат азид натрия, который может образовывать взрывчатые азиды в металлических трубах. Соблюдайте соответствующие меры утилизации.

Около 2,9% смеси состоит из компонента (ов) неизвестной острой токсичности для человеческого здоровья и водной среды.

Класс опасности: Нет

Фразы риска: Нет

Предупредительные фразы: Нет.

Дополнительная информация о безопасности:

VWF:Ag картридж: Нет

VWF:Ag Калибратор 1: Нет

VWF:Ag Калибратор 2: ~ 100% смеси состоит из компонента неизвестной острой токсичности (оральной, дермальной, ингаляционной) для человеческого здоровья и неизвестной опасности для водной среды.

Продукт предназначен для диагностики ин витро.

Приготовление:

VWF:Ag Картридж: Микрочастицы оседают при поставке и хранении. Необходимо смешивание, чтобы ресуспендировать.

- При первом использовании картриджа аккуратно встряхните картридж 30 раз избегая образования пены.
- Проверьте полное ресуспендирование микрочастиц в виае. При отсутствии полного ресуспендирования продолжайте встряхивать картридж до полного ресуспендирования микрочастиц.
- Если микрочастицы не ресуспендировались, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ КАРТРИДЖ.
- После ресуспендирования микрочастиц положите картридж на твердую поверхность и аккуратно снимите красную защитную транспортировочную этикетку с картриджа.
- Когда картридж находится на твердой поверхности нажмите на два ушка расположенных по обеим сторонам прокалываемой крышки (серая часть) и надавите на верхнюю часть картриджа до тех пор, пока она не окажется в закрытой позиции. В закрытой позиции ушки не должны быть видны.
- После размещения картриджа на борту прибора там же периодически происходит дополнительное его встряхивание.



VWF:Ag Калибратор 1: Жидкость, которую необходимо смешивать аккуратно поворачивая несколько раз для достижения гомогенности. Избегайте образования пены.

VWF:Ag Калибратор 2: Растворите содержимое виалы в 1 мл очищенной воды или аналогом.² Снимите крышку и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что продукт полностью

растворился. Перед использованием оставьте калибраторы на 30 минут при 15-25°C и аккуратно перемешайте. Не встряхивайте. **После растворения поместите все содержимое вials калибратора в соответствующую пластиковую пробирку со штрих кодом для использования с анализатором ACL AcuStar System.**

Примечание: При гомогенизировании реагентов избегайте образования пены. Пузырьки на поверхности жидкости могут влиять на датчики жидкости прибора.

Примечание: Не используйте реагент при наличии каких-либо изменений внешнего вида компонентов, в том числе при наличии повреждений упаковки набора.

Хранение и стабильность реагента

Невскрытые реагенты и калибраторы стабильны до истечения срока годности указанного на и картридже пробирке при 2-8°C.

VWF:Ag Картридж – Стабильность после вскрытия на борту ACL AcuStar System - 8 недель.

VWF:Ag Калибратор 1 & 2 - Стабильность после вскрытия и /или растворения на борту ACL AcuStar System - 4 часа.

Для оптимальной стабильности убирайте калибраторы из системы, закрывайте и храните их при 2-8°C в закрытом виде в поставляемой пластиковой пробирке со штрих кодом.

Примечание: Вскрытый картридж должен оставаться на борту AcuStar System. Для получения дополнительной информации см. Руководство пользователя анализатора AcuStar.

Процедура исследования

Полное описание процедуры исследования см. в Руководстве пользователя анализатора AcuStar.

Сбор и приготовление образца

Инструкции по сбору, работе с образцом и его хранению см. в CLSI документ H21-A5.⁶

Перед центрифугированием проверьте образцы цельной крови на образование сгустков.

Для получения образца плазмы центрифугируйте закрытую пробирку с образцом на скорости и в течение времени необходимого для образования обедненной тромбоцитами плазмы используя поворотной-откидной ротор для минимизации загрязнения плазмы тромбоцитами и другими клетками крови. Можно проводить двойное центрифугирование для гарантии получения образца обедненного тромбоцитами.^{4,5} После получения образец необходимо исследовать или заморозить в течение 4 часов. При необходимости быстро разморозьте замороженные образцы при 37°C и центрифугируйте. Перед исследованием аккуратно встряхните.

Перед исследованием центрифугируйте образцы содержащие видимые частицы. Не фильтруйте плазму.⁴

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не входят в состав набора. Приобретаются отдельно.

AcuStar VWF Контроли Кат.№ 0009802119

Контроль качества

Для полной программы контроля качества рекомендуется использовать контроль двух уровней. Низкий и нормальный контроли HemosIL AcuStar VWF предназначены для данной программы. Каждая лаборатория должна установить собственное среднее и стандартное отклонение и программу контроля качества для лабораторных исследований. Согласно общей лабораторной практике контроли следует анализировать минимум каждые 8 часов при проведении исследований. Дополнительную информацию см. В руководстве пользователя прибора. В неконтролируемых ситуациях см. руководство

Westgard et al/.

Прослеживаемость калибраторов и контрольных материалов

Полученные значения были определены в ходе множества серий на анализаторе ACL AcuStar System с использованием специфических лотов реагентов откалиброванных с помощью калибраторов содержащих концентрации заданные внутренним референсным материалом для VWF and FVIII.

Результаты

VWF:Ag результаты представлены в % от нормального значения, что эквивалентно МЕ/дл.

При постановке диагноза результаты исследования следует использовать совместно с другой информацией, в том числе с учетом клинического контекста.

Дополнительную информацию см. в руководстве пользователя анализатора ACL AcuStar.

Ограничения/мешающие вещества

На результаты VWF:Ag на анализаторе ACL AcuStar не оказывает влияния гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 1250 мг/дл. Наличие ревматоидного фактора может приводить к занижению результатов VWF:Ag. Может потребоваться дополнительное исследование.

Ожидаемые значения

Исследование нормального диапазона (n = 287) было проведено внутри компании с использованием набора HemosIL AcuStar VWF:Ag согласно CLSI C28-A312

Тип крови ABO ¹⁰	N	HemosIL AcuStar VWF:Ag
Все	287	52.2-177.9%
0	163	48.2-157.2%
A + B + AB	124	59.6-210.5%

В силу множества переменных, которые могут повлиять на результат, каждая лаборатория должна установить собственный нормальный диапазон VWF:Ag.

Рабочие характеристики

Точность:

Точность оценивалась с использованием 1 лота реагентов на 2 приборах AcuStar. Точность оценивалась согласно CLSI EP05-A2, в течение 20 дней, 2 серии в день в 2 повторностях в каждой серии для каждого уровня образца (n=80/прибор/уровень). Данные исследования представлены ниже.

ACL AcuStar	Среднее (% VWF:Ag)	КВ % (внутри серии)	КВ % (Итого)
Низкий образец	11.6	2.7	4.9
Низкий VWF контроль	28.3	5.9	6.9
Cut-off образец	67.0	3.2	4.8
Нормальный контроль	117.8	3.2	4.6
Нормальный образец	160.1	6.3	7.8
Высокий образец	206.1	3.9	7.4

Корреляция:

Сравнение методов внутри компании было проведено согласно EP09-A2 на 127 образцах, путем сравнения реагента HemosIL AcuStar VWF:Ag с HemosIL VWF Антиген. Были получены следующие результаты:

Система	n	Наклон	Пересечение r	Метод сравнения
---------	---	--------	---------------	-----------------

ACL AcuStar	127	0.93	-0.78	0,991	HemosIL VWF:Ag / ACLTOP семья
-------------	-----	------	-------	-------	-------------------------------

Результаты корреляции и точности были получены с использованием специфических лотов реагентов и контролей. В полевом исследовании были получены следующие данные с использованием специфических лотов реагентов HemosIL AcuStar VWF:Ag

Система	n	Наклон	Пересечение	r	Метод сравнения
ACL AcuStar	128	0.97	-1.03	0.99	HemosIL VWF:Ag / ACLTOP семья

Предел обнаружения:

Система

ACL AcuStar 0.13%

Линейность:

Система

ACL AcuStar 0.3-400.0%

Если в приборе активирована функция повторного запуска, прибор автоматически проводит разбавление и корректирует окончательный результат для фактора разбавления (20х) увеличивая тем самым диапазон исследования до 8000%.

На исследование не оказывает влияния эффект прозоны. В протоколе исследования имеется этап промывки после инкубации образца, что предотвращает эффект прозоны. Прозона не была обнаружена до 13060%, наивысшая исследованная концентрация.

Д-Димер – 0009802000**Назначение**

Полностью автоматизированный хемилюминесцентный иммунохимический метод количественного определения Д-Димера в человеческой цитратной плазме на анализаторе ACL AcuStar™ предназначен для помощи в диагностике венозной тромбоэмболии (ВТЭ) [тромбоза глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА)].

Принцип метода

Д-Димер фрагменты входят в состав образующихся под воздействием плазмينا растворимых продуктов деградации поперечно-сшитого фактором XIIIa фибрина (XDP)¹. Плазмин представляет собой сериновую протеазу, которая в отсутствие ингибиторов разлагает нерастворимый поперечно-сшитый фибрин до ряда растворимых производных. Их молекулярный вес зависит от степени разложения. Эти растворимые продукты деградации фибрина содержат неоантиген (Д-Димер домен), который отсутствует на исходной молекуле фибриногена, продуктах деградации фибриногена и на растворимом фибрине^{2,3}. Определение Д-Димера становится широко распространенным методом диагностики тромбозов и мониторинга тромболитической терапии⁴.

Повышение уровня Д-Димера наблюдается при таких клинических состояниях, как тромбоз глубоких вен (ТГВ), тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС)⁵. Уровень Д-Димера также повышается во время нормальной беременности, однако очень высокий уровень связывают с ее осложнениями.⁶

Показано, что отрицательный результат определения Д-Димера в совокупности с низким баллом по шкале предтестовой оценки вероятности тромботического события имеет высокую отрицательную прогностическую значимость (ОПЗ) при диагностике ТГВ и ТЭЛА⁷⁻¹⁴.

HemosIL AcuStar Д-Димер представляет собой двухстадийный метод иммунохимического количественного определения Д-Димера в человеческой цитратной плазме с использованием

магнитных частиц в качестве твердой фазы и хемилюминесцентной системы детекции. На первой стадии смешивают образец, магнитные частицы, покрытые антителами к Д-Димеру, и реакционный буфер.

Присутствующие в образце растворимые производные фибрина, содержащие Д-Димер домен, связываются с анти-Д-Димер антителами на поверхности магнитных частиц. После магнитной сепарации и отмывки на второй стадии в реакционную ячейку добавляются анти-XDP антитела, меченные изолюминомом, и выполняется инкубация. После второй инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляется два реагента-триггера, и результат хемилюминесцентной реакции измеряется в относительных единицах свечения RLU (RLU – relative light units) в оптической системе анализатора ACL AcuStar. Величина RLU прямо пропорциональна концентрации Д-Димера в образце. Мастер-кривая для обработки полученных в системе ACL AcuStar данных анализа Д-Димера создается с помощью 4-параметрического логарифмического логистического метода (4PLC). Мастер-кривая устанавливается производителем для серии (лота) реагентов и считывается прибором с нанесенного на картридже штрих кода.

После измерения калибраторов мастер-кривая преобразуется в новую, прибор-специфичную 4PLC рабочую калибровочную кривую. Значения концентрации калибраторов включены в штрих код, нанесенный на пробирки с калибраторами.

Состав набора

В набор **AcuStar Д-Димер** входит:

R Д-Димер картридж на 100 определений (Кат. № 0009802001): в 1 картридж входит 1 флакон с суспензией магнитных частиц, покрытых мышиными моноклональными антителами (МА-8D3) к Д-Димер домену, 1 флакон с реакционным буфером, 1 флакон с трейсером, состоящим из анти-XDP мышиных моноклональных антител, меченных изолюминомом, и 1 флакон с разбавителем для образца, используемым для автоматического разведения в повторном анализе. Реагенты находятся в фосфатном буфере, содержащем бычий сывороточный альбумин (БСА), мышиные моноклональные IgG, стабилизаторы и консервант.

C1 Д-Димер Калибратор 1 (Кат. № 0009802002): 1 флакон х 1 мл лиофилизированного раствора частично очищенного Д-Димера, полученного из человеческого фибрина, расщепленного человеческим плазмином, с добавлением БСА, буфера, стабилизаторов и консерванта.

C1 Д-Димер Калибратор 1 (Кат. № 0009802002): 1 пластиковая пробирка со штрих кодом для Д-Димер Калибратора 1.

C2 Д-Димер Калибратор 2 (Кат. № 0009802003): 1 флакон х 1 мл лиофилизированного раствора частично очищенного Д-Димера, полученного из человеческого фибрина, расщепленного человеческим плазмином, с добавлением БСА, буфера, стабилизаторов и консерванта.

C2 Д-Димер Калибратор 2: 1 пластиковая пробирка со штрих кодом для Д-Димер Калибратора 2.

Калибраторы связаны с определенным лотом реагентов и не могут быть использованы с другими лотами реагентов.

Меры предосторожности

Материал человеческого происхождения для производства данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2 антител. Обращайтесь, как с потенциально инфекционным материалом.¹⁵ Все реагенты содержат менее 0.1% азида натрия, способного образовывать взрывоопасные соединения в металлических трубопроводах. Используйте надлежащие процедуры утилизации.

Класс опасности: Отсутствует

Краткие характеристики опасности: Отсутствуют

Меры предосторожности: Отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

Д-Димер картридж: отсутствует

Д-Димер Калибратор 1/Калибратор 2: До 7% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

Д-Димер картридж: во время транспортировки и хранения микрочастицы оседают, и для ресуспендирования их необходимо перемешивать.

- При первом использовании картриджа аккуратно переверните его 30 раз, избегая пенообразования.

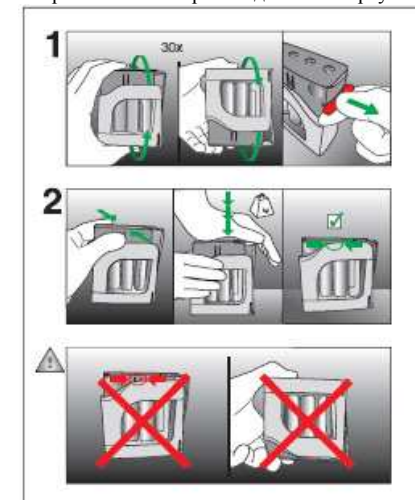
- Проверьте полноту ресуспендирования микрочастиц. Если микрочастицы не полностью перешли в суспензию, продолжайте переворачивать картридж до полного ресуспендирования.

- Если микрочастицы не ресуспендируются, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ КАРТРИДЖ.

- После ресуспендирования поставьте картридж на твердую поверхность и аккуратно удалите красную защитную транспортировочную вкладку.

- Оставив картридж на твердой поверхности, сожмите два выступа на боку пробивающей крышки (серой части) и вдавите ее сверху в картридж, пока она не зафиксируется со щелчком. В фиксированном положении выступы не должны быть видны. **Не переворачивайте открытый картридж.**

- После установки картриджа в прибор периодическое дополнительное перемешивание производится на борту.



Д-Димер Калибраторы 1&2: Растворите содержимое каждого флакона в 1 мл дистиллированной воды класса CLRW по CLSI (ранее NCCLS) или аналогичной¹⁶. Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь в полном растворении содержимого. Выдержите калибраторы 30 минут при 15-25°C и перед использованием аккуратно перемешайте, переворачивая. Не встряхивайте.

После растворения перелейте калибратор целиком в пустую пластиковую пробирку для ACL AcuStar, помеченную штрих кодом, соответствующим данному калибратору. Избегайте пенообразования.

Стабильность реагентов и хранение

Невыскрытые реагенты и калибратор при хранении при температуре 2-8°C стабильны до истечения срока годности, указанного на картридже и пробирках.

Д-Димер картридж – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 2 месяца.

Д-Димер Калибраторы 1&2 – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 3,5 часа.

Для сохранения стабильности реагентов вынимайте их из прибора и храните в закрытых оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.

Выполнение анализа

Полную инструкцию по проведению анализа можно найти в Руководстве по эксплуатации анализатора ACL AcuStar

Сбор и подготовка образцов

Десять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринарий цитрата. Дальнейшие инструкции по сбору, обращению и хранению образцов представлены в документе H21-A5 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI).¹⁷ Замороженная плазма должна быть быстро разморожена при 37°C. Анализ необходимо выполнить в течение двух часов после размораживания. Перед анализом образцы с видимыми включениями следует центрифугировать.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:
AcuStar Д-Димер контроли Кат. № 0009802100

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать три уровня контроля.¹⁸ Для контроля качества разработаны низкий, высокий и очень высокий HemosIL AcuStar Д-Димер контроли. Каждая лаборатория должна самостоятельно определить собственные среднее значение и стандартное отклонение, и установить программу контроля качества для мониторинга лабораторного тестирования. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы следуйте правилам Вестгарда (Westgard et al)¹⁹.

Прослеживаемость значений калибраторов и контролей

Указанные значения были определены путем многократных измерений на системе AcuStar с использованием определенных лотов реагентов и внутреннего стандарта. Поскольку международный стандарт для Д-Димеров в настоящее время не установлен, значение внутреннего стандарта было получено в соответствии с критерием согласования, предложенным В. Нивенхузенем (W. Nieuwenhuizen)²⁰⁻²² и П. Мейером (P. Meijer)²³.

Результаты

Результаты определения Д-Димеров выражаются в нг/мл. Эти единицы соответствуют нг/мл фибрин эквивалентных единиц (FEU-Fibrin Equivalent Units). Дополнительную информацию можно найти в Руководстве по эксплуатации прибора.

Ограничения метода/влияние других веществ

На результаты определения Д-Димеров в системе ACL AcuStar не оказывает влияния гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 1250 мг/дл, гепарин (низкомолекулярный и нефракционированный) до 2 МЕ/мл и ревматоидный фактор до 450 МЕ/мл. Фибриноген: Результаты определения концентрации в разведенных Д-Димер положительных плазменных цитратных плазмах с титром 2072 нг/мл не показывали значительного различия при разном способе разведения: истощенной по Д-Димеру плазмой или разбавителем для образца.

На результаты определения Д-Димера в системе ACL AcuStar не оказывают влияния очищенные человеческие антитышковые антитела (НАМА)²⁴ до 1 мкг/мл. Аналитическая система ACL Acustar Д-Димер содержит добавки, убирающие влияние НАМА. Однако в том случае, если результаты анализа не согласуются с другими данными клинического обследования, для постановки диагноза может потребоваться дополнительная информация.

HemosIL Acustar Д-Димер метод не является аттестованным методом для исключения диагноза ВТЭ.

Ожидаемые результаты

Диапазон нормальных значений установлен по результатам анализа 180 образцов цитратной плазмы здоровых взрослых доноров из банка крови с использованием AcuStar реагентов и Д-Димер калибраторов. Пороговым значением положительного результата теста на Д-Димер был выбран результат 97.5 процентиля.

Система	N	Верхняя граница нормального диапазона (нг/мл)
ACL AcuStar	180	630

В силу наличия множества факторов, которые могут влиять на результат (включая возраст обследуемых)²⁵⁻²⁷, каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон нормальных значений. При постановке диагноза результаты анализа следует использовать в совокупности с другой информацией, включая клиническую картину.

Характеристики метода

Воспроизводимость:
Воспроизводимость внутрисерийная и общая (в разных сериях в разные дни) оценивалась на основании многократных измерений.

ACL AcuStar	Среднее (Ед/мл)	CV% (в серии)	CV% (общий)
Низкий Д-Димер контроль	234	4.0%	6.8%
Высокий Д-Димер контроль	841	2.3%	4.9%
Очень высокий Д-Димер контроль	8467	2.5%	5.6%
Калибратор 1	358	2.7%	5.4%

Прибор	N	Наклон	Пересечение	r	Референтный метод
ACL AcuStar	179	1.16	-247	0.888	твердофазный ИФА

В клиническом исследовании данный набор для определения Д-Димера сравнивали с методом HemosIL D-Dimer HS на анализаторах серии ACL TOP на 102 пациентах (5 с ТГВ, 7 ТЭЛА, 2 ТГВ и ТЭЛА, и 88 с различными стадиями заболевания). На AcuStar корреляция (r) составила 0.895.

В дополнительном клиническом исследовании данный набор для определения Д-Димера сравнивали с коммерческим FDA-сертифицированным методом твердофазного ИФА. На AcuStar корреляция (r) результатов составила 0.986.

Патологические уровни Д-Димера были получены в образцах всех пациентов с клиническим диагнозом ДВС, ТЭЛА и ТГВ.

Результаты клинических исследований, а также исследований по определению воспроизводимости и корреляции, были получены при использовании определенных лотов реагентов и контролей.

Клинические исследования

Было проведено исследование на 344 замороженных цитратных плазмах пациентов, доставленных в отделение скорой помощи с подозрением на ТЭЛА и ТГВ (частота венозных тромбозов составила 28.2%). С помощью визуализационных методов диагностики диагноз ВТЭ был подтвержден у 97 из 344 пациентов (64 ТЭЛА и 33 ТГВ), у остальных 247 диагноз подтвержден не был.

Представленные ниже результаты основаны на значении cut-off 500 нг/мл.

Прибор	N	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	ОПЗ (95%)
ACL AcuStar	344	100% (96.3%-100.0%)	55.5%(49.0%-61.8%)	100.0%(97.3%-100.0%)

Предел обнаружения

Прибор	Предел обнаружения
ACL AcuStar	6.51 нг/мл

Линейность

Прибор	Повторный тест выкл	Повторный тест вкл
ACL AcuStar	54.3 – 74000 нг/мл	54.3 – 1110000 нг/мл

Когда в приборе включена функция выполнения повторного анализа, то разведение образца и коррекция конечного результата с учетом фактора разведения (15х) выполняется автоматически, и диапазон анализа расширяется до 1110000 нг/мл.

Эффект прозоны не оказывает влияния на анализ. По протоколу анализа после инкубации образца следует стадия промывки, которая предотвращает появление эффекта прозоны. В исследовании клинических характеристик метода и при определении диапазона линейности образцы с концентрацией Д-Димера выше 74000 нг/мл подвергались повторному тестированию.

Назначение

ГемосИЛ АкуСтар Активность Ристоцетина кофактора фактора Виллебранда (ГемосИЛ АкуСтар VWF:RCo) – полностью автоматический хемилюминисцентный иммунологический анализ для количественного определения активности Ристоцетина кофактора фактора Виллебранда в цитратной плазме человека на анализаторе ACL AcuStar™. Исследование ГемосИЛ АкуСтар VWF:RCo предназначено для использования у пациентов с подозрением на болезнь Виллебранда согласно их клиническим признакам.

Описание и принцип

Основное обследование болезни Виллебранда (БВ) включает исследование активности Ристоцетина кофактора фактора Виллебранда (VWF:RCo) для определения активности фактора Виллебранда в белке плазмы. Исследование VWF:RCo с использованием тромбоцитов воспроизводит в лаборатории способность фактора Виллебранда взаимодействовать с одним из тромбоцитарных рецептором, гликопротеиновым комплексом GPIb-IX-V при наличии ристоцетина.¹ Классический метод основан на способности антибиотика ристоцетина агглютинировать закрепленные в формалине нормальные тромбоциты при наличии фактора Виллебранда; однако имеется высокая межлабораторная изменчивость в силу сложности процедуры. Исследование ГемосИЛ АкуСтар VWF:RCo – двухэтапный иммунологический анализ для количественного определения активности VWF:RCo в цитратной плазме человека с использованием магнитных частиц в качестве твердой фазы и хемилюминесцентной системы обнаружения. На первом этапе образец смешивается с ристоцетином содержащим буфер для проведения анализа и магнитные частицы покрытые рекомбинантным фрагментом гликопротеинового тромбоцитарного рецептора фактора Виллебранда (rGPIba) посредством специфического моноклонального антитела, который ориентирует GPIba фрагмент в нужном направлении для взаимодействия с фактором Виллебранда образца пациента при наличии ристоцетина.^{2,3} Фактор Виллебранда присутствующий в образце связывается с магнитными частицами пропорционально активности кофактора ристоцетина. На втором этапе после магнитного отделения и промывки анти- VWF моноклональное антитело меченое изолуцином добавляется и проводится инкубация. После очередного магнитного отделения и промывки добавляются два триггерных агента и с помощью оптической системы ACL AcuStar измеряется соответствующая хемилюминесцентная реакция как относительная световая единица (OCE). OCE прямо пропорциональна активности концентрации VWF:RCo в образце. Исследование ACL AcuStar VWF:RCo использует логистическую кривую с 4 параметрами с подходящим методом редукции данных для создания обобщающей кривой. Заданная обобщающая кривая зависит от лота и хранится в приборе благодаря картриджу со штрих кодом. С измерением калибраторов заданная обобщающая кривая трансформируется в новую логистическую кривую с 4 параметрами. Значения концентрации калибраторов указаны в штрих коде пластиковой пробирки калибратора.

Состав

Набор VWF: RCo состоит из:

R VWF:RCo Картридж для 25 исследований (кат.№ 0009802025): 1 картридж содержит: 1 виала с суспензией магнитных частиц покрытых рекомбинантным фрагментом гликопротеинового тромбоцитарного рецептора фактора Виллебранда (rGPIba) посредством специфического моноклонального мышиного антитела; 1 виала аналитического буфера содержащего сульфат ристоцетина, гликопептидный антибиотик без *Nocardia lurida*; 1 виала трассирующего вещества состоящего из анти- VWF мышиного

моноклонального антитела меченого изолуминолом; и 1 виала дилуэнта образца используемого для регулярного предварительного разбавления образца и автоматического разбавления при повторном исследовании образца. Образцы находятся в цитратном или HEPES буфере содержащем бычий сывороточный альбумин, IgG мыши, стабилизаторы и консервант.

[C1] Калибратор 1 VWF:RCo (кат.№ 0009802026): 1x1 мл пробирка со штрих кодом и HEPES соляным раствором содержащим бычий сывороточный альбумин, IgG мыши, стабилизаторы и консервант.

[C2] Калибратор 2 VWF:RCo (кат.№ 0009802027): 2 виалы: 1x1 мл лиофилизированная плазма человека содержащая буфер, стабилизаторы и консервант и 1 VWF:RCo Калибратор 2 пластиковые пробирки со штрих кодом.

Калибраторы зависимы от лота и не могут быть использованы с реагентами других лотов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

AcuStar VWF:RCo Картридж и Калибратор 1 содержат материал животного происхождения. Поэтому работать с ним следует как с потенциально инфекционным⁴. Все животные доноры находились в стадах проверенных на отсутствие ГЭКРС. Всех животных проверяли ветеринарные врачи на отсутствие инфекционного и заразного материала.

AcuStar VWF:RCo Калибратор 2 содержит материал человеческого происхождения в данном продукте были протестированы методами, одобренными FDA, с отрицательными результатами, на HBV поверхностный антиген, HCV и HIV1/2 антитела и поверхностный антиген гепатита В на донорской стадии.

С данным продуктом, как и с любым другим продуктом человеческого происхождения следует обращаться соблюдая правила лабораторной безопасности для минимизации риска переноса инфекционного заболевания.

Все реагенты содержат азид натрия, который может образовывать взрывчатые азиды в металлических трубах. Соблюдайте соответствующие меры утилизации.

Около 2,9% смеси состоит из компонента неизвестной острой токсичности для человеческого здоровья и водной среды.



Предупреждение

VWF:RCo картридж с реагентами (Дилуэнт образца) и VWF:RCo Калибратор 1:

Класс опасности: Раздражение глаз, 2, H319

Фразы риска: H319: Вызывает серьезное раздражение глаз

Предупредительные фразы: P264: Тщательно мойте руки после работы, P280: Надевайте средства защиты глаз/лица, P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Тщательно промойте водой в течение нескольких минут. По возможности снимите контактные линзы. Продолжайте промывку, P337+P313: При продолжающемся раздражении глаз: Обратитесь за медицинской помощью.

Дополнительная информация о безопасности: 1% смеси состоит из компонента неизвестной острой токсичности (оральной, дермальной, ингаляционной) для человеческого здоровья и неизвестной опасности для водной среды.

VWF: RCo картридж с реагентами (реагент с микрочастицами, аналитический буфер, индикатор) и VWF:RCo Калибратор 2:

Класс опасности: Нет

Фразы риска: Нет

Предупредительные фразы: Нет

Дополнительная информация о безопасности:

Реагент с микрочастицами: до 2,8% смеси состоит из компонента неизвестной острой токсичности (ингаляционной) для человеческого здоровья

Аналитический буфер: Нет

Индикатор: Нет

VWF:RCo Калибратор 2: ~ 100% смеси состоит из компонента неизвестной острой токсичности (оральной, дермальной, ингаляционной) для человеческого здоровья и неизвестной опасности для водной среды.

Продукт предназначен для диагностики ин витро.

Приготовление:

VWF:RCo Картридж: Микрочастицы оседают при поставке и хранении. Необходимо смешивание, чтобы ресуспендировать.

- При первом использовании картриджа аккуратно встряхните картридж 30 раз избегая образования пены.
- Проверьте полное ресуспендирование микрочастиц в виае. При отсутствии полного ресуспендирования продолжайте встряхивать картридж до полного ресуспендирования микрочастиц.
- Если микрочастицы не ресуспендировались, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ КАРТРИДЖ.
- После ресуспендирования микрочастиц положите картридж на твердую поверхность и аккуратно снимите красную защитную транспортировочную этикетку с картриджа.
- Когда картридж находится на твердой поверхности нажмите на два ушка расположенных по обеим сторонам прокалываемой крышки (серая часть) и надавите на верхнюю часть картриджа до тех пор, пока она не окажется в закрытой позиции. В закрытой позиции ушки не должны быть видны.
- После размещения картриджа на борту прибора там же периодически происходит дополнительное его встряхивание.



VWF:RCo Калибратор 1: Жидкость, которую необходимо смешивать аккуратно поворачивая несколько раз для достижения гомогенности. Избегайте образования пены.

VWF:RCo Калибратор 2: Растворите содержимое вials в 1 мл очищенной воды или аналогом.⁶ Снимите крышку и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что продукт полностью растворился. Перед использованием оставьте калибраторы на 30 минут при 15-25°C и аккуратно перемешайте. Не встряхивайте. После растворения поместите все содержимое вials калибратора в соответствующую пластиковую пробирку со штрих кодом для использования с анализатором ACL AcuStar System.

Примечание: При гомогенизировании реагентов избегайте образования пены. Пузырьки на поверхности жидкости могут влиять на датчики жидкости прибора.

Примечание: Не используйте реагент при наличии каких-либо изменений внешнего вида компонентов, в том числе при наличии повреждений упаковки набора.

Хранение и стабильность реагента

Невскрытые реагенты и калибраторы стабильны до истечения срока годности указанного на и картридже пробирке при 2-8°C.

VWF:RCo Картридж – Стабильность после вскрытия на борту ACL AcuStar System - 8 недель.

VWF:RCo Калибратор 1 & 2 - Стабильность после вскрытия и /или растворения на борту

ACL AcuStar System - 4 часа,

Для оптимальной стабильности убирайте калибраторы из системы, закрывайте и храните их при 2-8°C в закрытом виде в поставляемой пластиковой пробирке со штрих кодом.

Примечание: Вскрытый картридж должен оставаться на борту AcuStar System. Для получения дополнительной информации см. Руководство пользователя анализатора AcuStar.

Процедура исследования

Полное описание процедуры исследования см. в Руководстве пользователя анализатора AcuStar.

Сбор и приготовление образца

Инструкции по сбору, работе с образцом и его хранению см. в CLSI документ H21-A5.⁶

Перед центрифугированием проверьте образцы цельной крови на образование сгустков.

Для получения образца плазмы центрифугируйте закрытую пробирку с образцом на скорости и в течение времени необходимого для образования обедненной тромбоцитами плазмы используя поворотной-откидной ротор для минимизации загрязнения плазмы тромбоцитами и другими клетками крови. Можно проводить двойное центрифугирование для гарантии получения образца обедненного тромбоцитами.^{7,8} После получения образец необходимо исследовать или заморозить в течение 4 часов. При необходимости быстро разморозьте замороженные образцы при 37°C и центрифугируйте. Перед исследованием аккуратно встряхните.

Перед исследованием центрифугируйте образцы содержащие видимые частицы. Не фильтруйте плазму.⁷

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не входят в состав набора. Приобретаются отдельно.

AcuStar VWF Контроли Кат.№ 0009802119

Контроль качества

Для полной программы контроля качества рекомендуется использовать контроль двух уровней.⁹ Низкий и нормальный контроли HemosIL AcuStar VWF предназначены для данной программы. Каждая лаборатория должна установить собственное среднее и стандартное отклонение и программу контроля качества для лабораторных исследований. Согласно общей лабораторной практике контроли следует анализировать минимум каждые 8 часов при проведении исследований. Дополнительную информацию см. В руководстве пользователя прибора. В неконтролируемых ситуациях см. руководство Westgard et al.¹⁰

Прослеживаемость калибраторов и контрольных материалов

Полученные значения были определены в ходе множества серий на анализаторе ACL AcuStar System с использованием специфических лотов реагентов откалиброванных с помощью калибраторов содержащих концентрации заданные внутренним референсным материалом для VWF and FVIII.¹¹

Результаты

VWF:RCo результаты представлены в % от нормального значения, что эквивалентно ME/дл.

При постановке диагноза результаты исследования следует использовать совместно с другой информацией, в том числе с учетом клинического контекста.

Дополнительную информацию см. в руководстве пользователя анализатора ACL AcuStar.

Ограничения/мешающие вещества

На результаты VWF:RCo на анализаторе ACL AcuStar не оказывает влияния гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 1250 мг/дл, ревматоидный фактор до 800 МЕ/мл и человеческое антимышиное антитело до 1 пг/мл.

Ожидаемые значения

Исследование нормального диапазона (n = 287) было проведено внутри компании с использованием набора HemosIL AcuStar VWF:RCo согласно CLSI C28-A312,

Тип крови ABO ¹³	N	HemosIL AcuStar VWF:RCo
Все	287	45.6- 176.3%
0	163	43.8-161.5%
A + B + AB	124	53.8-210.8%

В силу множества переменных, которые могут повлиять на результат, каждая лаборатория должна установить собственный нормальный диапазон VWF:RCo.

Рабочие характеристики

Точность:

Точность оценивалась с использованием 1 лота реагентов на 1 приборе AcuStar. Точность оценивалась согласно CLSI EP05-A2¹⁴, в течение 20 дней, 2 серии в день в 2 повторностях в каждой серии для каждого уровня образца (n=80/уровень). Данные исследования представлены ниже.

ACL AcuStar	Среднее (% VWF:RCo)	КВ % (внутри серии)	КВ % (Итого)
Низкий VWF контроль	31.5	3.5	5,3
Нормальный VWF			
Контроль	111.4	4.2	6,9
Cut-off образец	67.6	4.2	7.5

Корреляция:

Сравнение методов внутри компании было проведено согласно EP09-A216 на 133 образцах, путем сравнения реагента HemosIL AcuStar VWF:RCo с HemosIL VWF:RCo. Были получены следующие результаты:

Система	n	Наклон	Пересечение	r	Метод сравнения
ACL AcuStar	133	1.06	-8,1	0,987	HemosIL VWF:RCo / ACLTOP семья

Результаты корреляции и точности были получены с использованием специфических лотов реагентов и контролей. В полевом исследовании были получены следующие данные с использованием специфических лотов реагентов HemosIL AcuStar VWF:RCo

Система	n	Наклон	Пересечение	r	Метод сравнения
ACL AcuStar	127	1.12	-7.15	0.95	HemosIL VWF:RCo / ACLTOP семья

Предел

обнаружения:

Система

ACL AcuStar 0,17%

Линейность:

Система

ACL AcuStar 0,5-200,0%

Если в приборе активирована функция повторного запуска, прибор автоматически проводит разбавление и корректирует окончательный результат для фактора разбавления

(20х) увеличивая тем самым диапазон исследования до 4000.0%.

На исследование не оказывает влияния эффект прозоны. В протоколе исследования имеется этап промывки после инкубации образца, что предотвращает эффект прозоны. Прозона не была обнаружена до 7441.1%, наивысшая исследованная концентрация.

HIT-IgG (PF4-H)– 0009802028

Назначение

Полностью автоматизированный хемилюминесцентный иммунохимический метод определения IgG антител, направленных против комплекса тромбоцитарного фактора 4 (PF4) с гепарином, в человеческой цитратной плазме и сыровотке на анализаторе ACL AcuStar™. Связанные с присутствием гепарина антитела обнаруживаются обычно у пациентов с гепарин-индуцированной тромбоцитопенией или тромбозом (ГИТ).

Принцип метода

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ) представляет собой иммунное нарушение, опосредованное образованием иммунных комплексов, которое может стать причиной заболеваемости и смертности пациентов, получающих гепариновую терапию¹. ГИТ считается парадоксальным заболеванием, поскольку антикоагулянтная терапия назначается для предотвращения тромбоза; тем не менее основным клиническим проявлением ГИТ является повышенный риск венозного и/или артериального тромбоза². Подозрение на ГИТ возникает в случае, если у пациента, получающего нефракционированный гепарин (НГ) или низкомолекулярный гепарин (НМГ), количество тромбоцитов снижается более чем на 50 % ниже базового уровня, обычно с 5 по 10 день после начала антикоагулянтной терапии³. Описаны случаи быстрого начала ГИТ и позднего начала ГИТ². Срочная диагностика ГИТ очень важна, так как в случае подтверждения диагноза назначение гепарина должно быть отменено и заменено на использование альтернативного антикоагулянта.

ГИТ II типа, иммуноаллергического типа, развивается в результате выработки антител, активирующих тромбоциты, большей частью направленных против тромбоцитарного фактора 4, образующего комплекс с гепарином (PF4/H)⁴. Эти антитела являются главной причиной развития тромбоза, как венозного, так и артериального. Согласно существующей рабочей гипотезе образование в предшествующий период PF4/H комплексов (под воздействием, возможно, эндогенных не-гепариновых факторов) приводит к кластеризации PF4/H и стимуляции Т-клеток, которые включают выработку антител В-клетками. Позднее эти В-клетки снова транзитивно активируются под воздействием кластеров PF4/H, образующихся вследствие приема гепарина². Развитие патологии связано в основном с присутствием гепарин-зависимых антител IgG изотипа¹. Однако у некоторых пациентов, включая случаи тромботических осложнений, наблюдалось присутствие антител только IgM и/или IgA.

Определение PF4/H антител в сочетании с соответствующим клиническим обследованием доказало свою эффективность при ведении больных с подозрением на ГИТ. В частности, отрицательный результат определения PF4/H антител помогает принять решение об исключении диагноза ГИТ и в связи с этим продолжить гепариновую терапию². Слабоположительный ответ может указывать на то, что антитела не участвуют в активации тромбоцитов, тогда как сильно положительный ответ может означать повышенный риск ГИТ. В обоих случаях для подтверждения диагноза рекомендуется выполнить функциональный тест. Для подтверждения или исключения диагноза следует в обязательном порядке провести повторное клиническое обследование, подкрепленное результатами лабораторных анализов².

HemosIL AcuStar метод определения HemosIL AcuStar ГИТ IgG_(PF4-H) представляет собой двухстадийный хемилюминесцентный метод иммунохимического анализа, в котором магнитные частицы, покрытые PF4 комплексами с поливинилсульфатом (PVS), улавливают из образца в случае их присутствия антитела к PF4-гепарину. После инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляется реагент-трейсер, представляющий собой античеловеческие-IgG антитела, меченые изолюминолом, который связывается с захваченными на частицах PF4-гепарин-IgG. После второй инкубации, магнитной сепарации и отмывки в реакционную ячейку добавляются реагенты (триггеры), которые запускают люминесцентную реакцию, и испускаемый свет измеряется в относительных единицах свечения RLU (RLU – relative light units) в оптической системе анализатора ACL AcuStar. Величина RLU прямо пропорциональна концентрации PF4-гепарин-IgG в образце.

Мастер-кривая для обработки полученных в системе ACL AcuStar данных анализа HemosIL AcuStar ГИТ IgG_(PF4-H) создается с помощью 4-параметрического логарифмического логистического метода (4PLC). Мастер-кривая устанавливается производителем для серии (лота) реагентов и считывается прибором с нанесенного на картридже штрих кода. После измерения калибраторов мастер-кривая преобразуется в новую, прибор-специфичную 4PLC рабочую калибровочную кривую. Значения концентрации калибраторов включены в штрих-код, нанесенный на пробирки с калибраторами.

Состав набора

В набор AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H) входит:

R ГИТ-IgG_(PF4-H) картридж на 25 определений (Кат № 0009802029): в 1 картридж входит 1 виала с суспензией магнитных частиц, покрытых PF4/PVS комплексом, 1 виала с реакционным буфером, 1 виала с трейсером, состоящим из античеловеческих mAb IgG антител, меченых изолюминолом, и 1 виала с разбавителем для образца, используемым для стандартного предварительного разведения образца. Реагенты находятся в фосфатном или Трис буфере, содержащем БСА, фетальную бычью сыворотку, PF4/PVS комплексы, мышинные моноклональные IgG, стабилизаторы и консерванты.

C1 ГИТ-IgG_(PF4-H) Калибратор 1 (Кат. № 0009802030): 1 x 1мл штрих-кодированная пробирка раствора гуманизированных анти-PF4-гепарин IgG mAb антител в Трис буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консервантов.

C2 ГИТ-IgG_(PF4-H) Калибратор 2 (Кат. № 0009802031): 1 x 1мл штрих-кодированная пробирка раствора гуманизированных анти-PF4-гепарин IgG mAb антител в Трис буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консервантов. Калибраторы связаны с определенным лотом реагентов и не могут быть использованы с другими лотами реагентов

Меры предосторожности

Материал данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2. Обращайтесь, как с потенциально инфекционным материалом.⁶

Ред версия - 01/2011

Все реагенты содержат менее 0.1% азида натрия, способного образовывать взрывоопасные соединения в металлических трубопроводах. Используйте адекватные процедуры утилизации. Избегайте попадания на кожу и в глаза (S24/25). Не сливайте в канализацию (S 29). Наденьте соответствующую защитную одежду (S 36).

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

ГИТ-IgG_(PF4-H) картридж: во время транспортировки и хранения микро-частицы оседают и для ресуспендирования их необходимо перемешивать.

- При первом использовании картриджа аккуратно переверните его 30 раз, избегайте пенообразования.
- Проверьте полноту ресуспендирования микрочастиц. Если микрочастицы не полностью перешли в суспензию, продолжайте переворачивать картридж до полного ресуспендирования.
- Если микрочастицы не ресуспендируются, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ КАРТРИДЖ.
- После ресуспендирования, поставьте картридж на твердую поверхность и аккуратно удалите красную защитную транспортировочную вкладку.
- Оставив картридж на твердой поверхности, сожмите два выступа на боку пробивающей крышки (серой части) и вдавите ее сверху в картридж, пока она не зафиксировается со щелчком. В фиксированном положении выступы не должны быть видны. **Не переворачивайте открытый картридж.**
- После установки картриджа в прибор периодическое дополнительное перемешивание производится на борту.



ГИТ-IgG_(PF4-H) Калибраторы 1&2: находятся в жидком состоянии и перед использованием их необходимо несколько раз аккуратно перевернуть, чтобы гомогенизировать содержимое. Избегайте пенообразования.

Примечание: не используйте набор при обнаружении какого-либо изменения внешнего вида компонентов или повреждения упаковки.

Стабильность реагентов и хранение

Невскрытые реагенты и калибраторы при хранении при температуре 2-8°C стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетках картриджа и пробирок.

ГИТ-IgG_(PF4-H) картридж – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 12 недель.

ГИТ-IgG_(PF4-H) Калибраторы 1&2 – стабильность на борту ACL AcuStar после вскрытия составляет 4 часа

Для сохранения стабильности вынимайте калибраторы из прибора и храните в закрытых оригинальных виалах при температуре 2-8°C.

Выполнение анализа

Полную инструкцию по проведению анализа можно найти в «Руководстве по эксплуатации анализатора ACL AcuStar».

Сбор и подготовка образцов

Плазма: Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата. Дальнейшая подготовка и хранение образца согласно международной инструкции CLSI H21-A5.⁷ Замороженная плазма должна быть быстро разморожена при 37°C. Анализ необходимо выполнить в течение двух часов после размораживания.

Сыворотка: после забора крови сыворотка должна быть отделена от сгустка. Следуйте рекомендациям CLSI H18-A3 по хранению образцов⁸. Перед анализом образцы с видимыми включениями следует центрифугировать.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:
AcuStar ГИТ контроли Кат. № 0009802122

Контроль качества

Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать 2 уровня контроля.⁹ Для контроля качества разработаны низкий и высокий контроли ГИТ. Каждая лаборатория должна установить свои собственные значения среднего и стандартной девиации и создать программу контроля качества для мониторинга лабораторного тестирования. Контрольные измерения необходимо проводить не реже, чем через каждые 8 часов работы в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. Для оценки результатов и принятия решений при выходе результатов за допустимые пределы, следуйте правилам Вестгарда¹⁰.

Соотнесение калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократного измерения определенных лотов реагентов относительно внутрифирменного стандарта в системе ACL AcuStar.

Матрица образца

Методом ГИТ-IgG_(PF4-H) анализировали 41 пару цитратных образцов плазмы и сыворотки. Результаты определения концентрации сравнивали в регрессионном анализе Пассинга и Баблока, в качестве референтных (по оси X) используя значения плазмы, и коэффициент корреляции рассчитывали по методу Пирсона. Коэффициенты уравнения, наклон и пересечение, составили соответственно 1.06 и -0.01 и коэффициент корреляции (r) получился 0.978.

Примечание: Анализатор ACL AcuStar автоматически учитывает разницу в разведении образцов плазмы и сыворотки. Полученные результаты анализа сыворотки не нуждаются в дальнейшей коррекции с помощью коэффициента пересчета.

Дополнительную информацию можно найти в Руководстве по эксплуатации ACL AcuStar.

Результаты

Результаты определения ГИТ-IgG_(PF4-H) отображаются в Ед/мл (в условных единицах HemosIL AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H)).

Диапазон исследования
Прибор

ACL AcuStar 0.0 – 128.0 Ед/мл

Примечание: Результаты >128 Ед/мл сообщаются в виде >128 Ед/мл с пометкой >Norm (> Нормы)

Несмотря на то, что положительный результат анализа может указывать на присутствие связанных с гепарином антител, обнаружение антител **НЕ ОЗНАЧАЕТ ПОДТВЕРЖДЕНИЯ** диагноза гепарин-индуцированной тромбоцитопении (ГИТ). Некоторые пациенты могут иметь естественно существующие антитела к PF4.

Ограничения метода/влияние других веществ

На результаты определения ГИТ-IgG_(PF4-H) на приборах ACL AcuStar не оказывает влияния гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 18 мг/дл, триглицериды до 1250 мг/дл, гепарин (низкомолекулярный и нефракционированный) до 1 МЕ/мл и ревматоидный фактор до 800 МЕ/мл.

Эффект прозоны не оказывает влияния на анализ. По протоколу анализа после инкубации образца следует стадия промывки, которая предотвращает появление эффекта прозоны.

Примечание: Образцы, положительные по ревматоидному фактору, могут повышать результат анализа образцов, положительных по ГИТ-IgG.

Двадцать шесть образцов пациентов с антифосфолипидным синдромом (АФС) были проанализированы методом HemosIL AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H). Во всех 26 образцах был получен отрицательный результат HemosIL AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H), что показывает отсутствие влияния АФС антител на результат анализа.

При изучении перекрестной реактивности методом AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H) было проанализировано 46 образцов со следующими показателями: с содержанием парaproтеинов IgG или IgM, с повышенным уровнем IgG или IgM, положительных по ревматоидному фактору (РФ) и от беременных женщин (как минимум 10% повторнородящих).

Группа образцов	N	N (положительных)	% ГИТ-IgG _(PF4-H) положит.
Ревматоидный фактор	10	0	0%
Повышенные IgG и IgM	20	0	0%
Парапротеины IgG и IgM	6	0	0%
Беременные	10	0	0%

Ожидаемые результаты

В норме у здоровых людей присутствия PF4 антител не ожидается. Был выполнен ряд описанных ниже исследований по установлению оптимального cut-off уровня результатов HemosIL AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H) в системе ACL AcuStar.

Было проанализировано 150 образцов плазмы практически здоровых людей (доноров банка крови). 95% референтный интервал составил 0.03 – 0.39 Ед/мл. Кроме того был проанализирован 91 образец (61 цитратная плазма и 30 сывороток) группы пациентов, принимавших гепарин (НГ и НМГ), без клинического подозрения на ГИТ. 95% референтный интервал составил 0.04 – 1.34 Ед/мл.

Наконец, сравнительное исследование, где на 201 плазме пациентов с подозрением на ГИТ (14 SRA положительных и 187 SRA отрицательных) проводилось сравнение с методом высвобождения серотонина (SRA), показало, что оптимальным значением cut-off, вычисленным методом ROC-анализа, является величина 1.00 Ед/мл (91% согласие, 95% ДИ=86.2 – 94.6%).

На основании данных исследований было установлено, что **если результат определения HemosIL AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H) в образцах плазмы пациентов, принимавших гепарин, равен или превышает 1.00 Ед/мл, то это может указывать на присутствие ГИТ антител.**

При установлении диагноза результаты анализа должны рассматриваться в совокупности с другой информацией, включая клиническую картину.

Характеристики метода

Воспроизводимость:

Воспроизводимость внутрисерийная и общая (в разных сериях в разные дни) оценивалась на основании многократных измерений.

ACL AcuStar	Среднее (Ед/мл)	CV% (в серии)	CV% (общий)
Низкий ГИТ-IgG _(PF4-H) контроль	0.52	5.0	6.3
Высокий ГИТ-IgG _(PF4-H) контроль	2.78	4.3	5.9
ГИТ-IgG _(PF4-H) образец плазмы	1.75	4.9	6.9

Сравнение методов

Было проведено внутрифирменное сравнительное исследование на образцах плазмы и сыворотки с использованием двух FDA-сертифицированных коммерческих методов твердофазного ИФА.

Результаты, представленные ниже, основаны на значении cut-off для анализатора ACL AcuStar 1.00 Ед/мл. Общий % согласия для образцов плазмы и сыворотки составил:

		тв.фаз. ИФА 1 образцы плазмы			тв.фаз. ИФА 2 образцы сыворотки	
		+	-		+	-
HemosIL AcuStar ГИТ-IgG _(PF4-H)	+	62	5	+	36	2
	Результаты -	39	160	-	3	84

Предикатив. устройство	N	% соположит. (95% ДИ)	% соотночат. (95% ДИ)	% согласия (95% ДИ)
ИФА 1 пл.	266	61.4% (51.2% - 70.9%)	97.0% (93.1% - 99.0%)	83.5% (78.4% - 87.7%)
ИФА 2 сыв.	125	92.3% (79.1% - 98.4%)	97.7% (91.9% - 99.7%)	96.0% (90.9% - 98.7%)

Клинические исследования

Межбольничное исследование было выполнено на базе трех больниц на 610 образцах (409 цитратных плазм и 201 сыворотка) с использованием двух коммерческих FDA-сертифицированных методов твердофазного ИФА. В одной больнице исследовались только образцы сыворотки, в двух других только образцы плазмы, результаты были объединены.

Образцы были взяты у пациентов, получавших гепарин, имевших симптомы ГИТ и в связи с этим подозреваемых на ГИТ.

Результаты, представленные ниже, основаны на значении cut-off для анализатора ACL AcuStar 1.00 Ед/мл:

		тв.фаз. ИФА 1 образцы плазмы			тв.фаз. ИФА 2 образцы сыворотки	
		+	-		+	-
HemosIL AcuStar ГИТ-IgG _(PF4-H)	+	14	5	+	22	2
	Результаты -	25	365	-	7	140

Предикатив. устройство	N	% соположит. (95% ДИ)	% соотночат. (95% ДИ)	% согласия (95% ДИ)
ИФА 1 пл.	409	35.9% (21.2% - 52.8%)	98.6% (96.9% - 99.6%)	92.7% (89.7% - 95.0%)
ИФА 2 сыв.	201	75.9% (56.5% - 89.7%)	98.8% (95.9% - 99.9%)	95.5% (91.7% - 97.9%)

Исследование воспроизводимости, практическое клиническое и сравнительное исследования проводились с использованием определенных лотов реагентов и контролей.

Раствор системный промывающий HemosIL AcuStar - 0009802200

Бутыль с раствором 1 × 5000 мл

Для использования с анализатором ACL AcuStar.

Состав

Водный раствор, содержащий органические и неорганические компоненты.

Применение

1. Внимательно ознакомьтесь с инструкцией по применению на анализатор ACL AcuStar.

Раствор системный промывающий устанавливается вне прибора. Нельзя располагать бутыль с раствором выше прибора.

2. Установите бутыль с раствором на одном уровне или ниже прибора.

Бутыль должна быть расположена таким образом, чтобы трубки, соединяющие их с прибором, не образовывали петель или перегибов, затрудняющих движение жидкости и приводящих к закупорке транспортных магистралей прибора.

3. Закрутите на них крышки с трубками от прибора.

4. Нажмите на экране кнопку System Rinse (Промывка) и следуйте указаниям на экране прибора.

Условия хранения

Хранить в хорошо вентилируемом помещении при температуре 15 - 25 °С. Избегать воздействия света и убирать от источников нагревания. Контейнеры держать плотно закрытыми.

Instrumentation Laboratory Co.,
180 Хартуэлл Роуд, Бедфорд, штат Массачусетс
01730-2443, США

Триггеры HemosIL AcuStar - 0009802201

Для использования с анализатором ACL AcuStar.

Состав набора

Триггер 1	250 мл	0009802202
Триггер 2	250 мл	0009802203

Применение

Триггеры (реагенты в двух бутылках) должны быть установлены в нише с ящиком для отходов в передней левой части прибора. Для правильной установки триггеров следуйте нижеприведенной последовательности, а также внимательно ознакомьтесь с инструкцией по применению на анализатор ACL AcuStar.

1. В интерфейсе прибора ACL AcuStar в окне инвентаризации емкости («Inventory-Bulks») выберите Triggers и следуйте дальнейшим указаниям на экране прибора.
2. Потяните за ручку слева на передней панели прибора и аккуратно двумя руками полностью вытащите ящик для отходов. Откройте доступ к бутылкам для отходов.
3. С помощью ручного сканера штрих-кодов считайте штрих-код с новой бутылки триггера 1.
4. Накрутите крышку, закрепленную в приборе, красную для триггера 1, на бутылку с реагентом.
5. С помощью ручного сканера штрих-кодов считайте штрих-код с новой бутылки с триггером 2.
6. Накрутите крышку, закрепленную в приборе, белую для триггера 2, на бутылку с реагентом.
7. Вставьте на место ящик для отработанных кювет и контейнер.

Предупреждение: Правильное присоединение трубок к каждой из бутылок очень важно, т.е. чтобы трубка триггера 1 входила в бутылку с триггером 1. При неправильном присоединении трубок результат анализа не будет достоверным.

Условия хранения: хранить в хорошо вентилируемом помещении при температуре 15- 25 °С. Избегать воздействия света и убирать от источников нагревания. Реагенты держать плотно закрытыми,

Instrumentation Laboratory Co.,
180 Хартуэлл Роуд, Бедфорд, штат Массачусетс
01730-2443, США

Раствор очищающий HemosIL AcuStar - 0009802204

Состав

Вials 6 × 4 мл

Для использования с анализатором ACL AcuStar.

Используется не реже 1 раза в месяц для общей промывки системы.

Применение

Используется не реже 1 раза в месяц для общей промывки системы.

Установите флакон очищающего раствора на бор анализатора и запустите прибор на проведение анализа.

Instrumentation Laboratory Co.,
180 Хартуэлл Роуд, Бедфорд, штат Массачусетс
01730-2443, США

Анти-Кардиолипин IgG Контроль – 0009802104

Назначение

Набор предназначен для контроля качества анализа Антикариолипин IgG (Кат. № 0009802004), выполняемого на анализаторе ACL™ AcuStar

Краткая информация

Антикардиолипиновые (aCL) антитела принадлежат к гетерогенной группе антифосфолипидных (aФЛ) антител, которые направлены против анионных фосфолипидов и фосфолипид-белковых комплексов. Постоянно повышенный уровень aФЛ антител связывают с повышенным риском васкулярных тромбозов и акушерских осложнений. Эта зависимость известна как антифосфолипидный синдром, классификация предложена Harris в 1987г.¹ Методы определения aCL IgG и IgM антител, анти-β₂-гликопротеин-I (анти-β₂GPI) IgG и IgM антител и волчаночных антикоагулянтов являются методами исследования aФЛ и описаны в обновленных международных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС в 2006 году на встрече в Сиднее (Австралия)^{2,3}.

Низкий и высокий антикардиолипиновый (aCL) IgG контроли приготовлены по специальной технологии и содержат разные концентрации человеческих aCL IgG антител.

Низкий Анти-Кардиолипин IgG контроль: контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения уровня aCL IgG антител в области нормальных значений, а также возле порогового (cut-off) значения.

Высокий Анти-Кардиолипин IgG контроль: контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения уровня aCL IgG антител в области патологических значений.

Для полноты контроля качества рекомендуется использовать оба уровня контроля.

Состав набора

В набор AcuStar aCL IgG контроли входит:

[L] Низкий Анти-Кардиолипин IgG контроль (кат. 0009802105): 3 x 1мл штрих-кодированных пробирки с растворенными в физиологическом растворе aCL IgG антителами с добавлением фетальной бычьей сыворотки, стабилизаторов и консервантов

[H] Высокий Анти-Кардиолипин IgG контроль (кат. 0009802106): 3 x 1мл штрих-кодированных пробирки с растворенными в физиологическом растворе aCL IgG антителами с добавлением фетальной бычьей сыворотки, стабилизаторов и консервантов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Материал человеческого происхождения для производства данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2 антител. Обращайтесь, как с потенциально инфекционным материалом⁴.

Класс опасности: Отсутствует

Краткие характеристики опасности: Отсутствуют

Меры предосторожности: Отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

5,0% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

aCL IgG контроли находятся в жидком состоянии и перед использованием их необходимо несколько раз аккуратно перевернуть, чтобы гомогенизировать содержимое. Избегайте пенообразования.

Примечание: Пузырьки на поверхности могут исказить показания датчиков уровня жидкости.

Стабильность контролей и хранение

Не вскрытые контроли стабильны до истечения срока годности, указанного на пробирках, при температуре 2-8°C. Стабильность после вскрытия: 10 часов постоянно на борту ACL AcuStar (в открытой штрих-кодированной пробирке) или 4 дня на борту по 45 минут 2 раза в день (в открытой штрих-кодированной пробирке) с последующим хранением при 2-8°C в закрытом виде. Контроли могут быть заморожены при -20°C и однократно разморожены. Не допускайте повторного замораживания.

Для оптимальной стабильности вынимайте контроли из прибора и храните закрытыми в оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.

Выполнение анализа

С aCL IgG контролями следует обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой или сывороткой.

Дополнительные реагенты

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

AcuStar Анти-Кардиолипин IgG

Кат.№ 0009802004

Соотнесение контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократного измерения с использованием конкретных лотов реагентов относительно внутреннего стандарта на системе AcuStar. Результаты анализа aCL IgG выражаются в Ед/мл (условных IgG единицах). Эти единицы установлены исходя из условия, что результат 20 Ед/мл соответствует верхней границе нормального диапазона, определенного по результатам анализа 252 цитратных плазм из банка крови (99-й процентиль). Следуя рекомендациям, выработанным на встрече в Сиднее² Международным комитетом по диагностике АФС, единицы измерения aCL IgG антител внутреннего стандарта соотнесены с единицами референтных химерных антител HCAL⁵.

Ограничения

Данные продукты разработаны как контрольные материалы для контроля правильности выполнения aCL IgG анализа. На контроли распространяются ограничения, присущие аналитической системе. Отклонения результатов указывают на наличие возможных проблем в одном или нескольких компонентах тест-системы.

Характеристики метода

Характеристики метода можно найти во вкладышах к наборам реагентов AcuStar aCL IgG.

Диапазоны концентраций низкого и высокого aCL IgG контролей были определены путем многократного измерения на системе ACL AcuStar с использованием различных лотов реагентов AcuStar aCL IgG. Среднее значение контрольного диапазона, определяемое в каждой лаборатории, может отличаться в зависимости от лота используемого реагента

(*) Информация, необходимая для заведения контрольных карт в ACL AcuStar. Требуется ввести только последние 4 цифры номера лота



Анти-Кардиолипин IgM Контроль – 0009802108

Назначение

Набор предназначен для контроля качества анализа Антикардиолипин IgM (Кат. № 0009802008), выполняемого на анализаторе ACL™ AcuStar

Краткая информация

Антикардиолипиновые (aCL) антитела принадлежат к гетерогенной группе антифосфолипидных (aФЛ) антител, которые направлены против анионных фосфолипидов и фосфолипид-белковых комплексов. Постоянно повышенный уровень aФЛ антител связывают с повышенным риском васкулярных тромбозов и акушерских осложнений. Эта зависимость известна как антифосфолипидный синдром, классификация предложена Harris в 1987г.¹ Методы определения aCL IgG и IgM антител, анти-β₂-гликопротеин-I (анти-β₂GPI) IgG и IgM антител и волчаночных антикоагулянтов являются методами исследования aФЛ и описаны в обновленных международных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС в 2006 году на встрече в Сиднее (Австралия)^{2,3}.

Низкий и высокий антикардиолипиновый (aCL) IgM контроли приготовлены по специальной технологии и содержат разные концентрации человеческих aCL IgM антител.

Низкий Анти-Кардиолипин IgM контроль: контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения уровня aCL IgM антител в области нормальных значений, а также возле порогового (cut-off) значения.

Высокий Анти-Кардиолипин IgM контроль: контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения уровня aCL IgM антител в области патологических значений.

Для полноты контроля качества рекомендуется использовать оба уровня контроля.

Состав набора

В набор AcuStar aCL IgM контроли входит:

[L] Низкий Анти-Кардиолипин IgM контроль (кат. 0009802109): 3 x 1мл штрих-кодированных пробирки с растворенными в физиологическом растворе aCL IgM антителами с добавлением фетальной бычьей сыворотки, стабилизаторов и консервантов

[H] Высокий Анти-Кардиолипин IgM контроль (кат. 0009802110): 3 x 1мл штрих-кодированных пробирки с растворенными в физиологическом растворе aCL IgM антителами с добавлением фетальной бычьей сыворотки, стабилизаторов и консервантов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Материал человеческого происхождения для производства данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2 антител. Обращайтесь, как с потенциально инфекционным материалом⁴.

Класс опасности: Отсутствует

Краткие характеристики опасности: Отсутствуют

Меры предосторожности: Отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

5,0% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

aCL IgM контроли находятся в жидком состоянии и перед использованием их необходимо несколько раз аккуратно перевернуть, чтобы гомогенизировать содержимое. Не допускайте пенообразования.

Примечание: Пузырьки на поверхности могут исказить показания датчиков уровня жидкости.

Стабильность контролей и хранение

Не вскрытые контроли стабильны до истечения срока годности, указанного на пробирках, при температуре 2-8°C. Стабильность после вскрытия: 10 часов постоянно на борту ACL AcuStar (в открытой штрих-кодированной пробирке) или 4 дня на борту по 45 минут 2 раза в день (в открытой штрих-кодированной пробирке) с последующим хранением при 2-8°C в закрытом виде. Контроли могут быть заморожены при -20°C и однократно разморожены. Не допускайте повторного замораживания.

Для оптимальной стабильности вынимайте контроли из прибора и храните закрытыми в оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.

Выполнение анализа

С aCL IgM контролями следует обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой или сывороткой.

Дополнительные реагенты

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

AcuStar Анти-Кардиолипин IgM Кат.№ 0009802008

Соотнесение контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократного измерения с использованием конкретных лотов реагентов относительно внутреннего стандарта на системе AcuStar. Результаты анализа aCL IgM выражаются в Ед/мл (условных IgM единицах). Эти единицы установлены исходя из условия, что результат 20 Ед/мл соответствует верхней границе нормального диапазона, определенного по результатам анализа 250 цитратных плазм из банка крови (99-й процентиль). Следуя рекомендациям, выработанным на встрече в Сиднее², Международным комитетом по диагностике АФС, единицы измерения aCL IgM антител внутреннего стандарта соотнесены с единицами референтных химерных антител EY2C9⁵.

Ограничения

Данные продукты разработаны как контрольные материалы для контроля правильности выполнения aCL IgM анализа. На контроли распространяются ограничения, присущие аналитической системе. Отклонения результатов указывают на наличие возможных проблем в одном или нескольких компонентах тест-системы.

Характеристики метода

Характеристики метода можно найти во вкладышах к наборам реагентов AcuStar aCL IgM.

Диапазоны концентраций низкого и высокого aCL IgM контролей были определены путем многократного измерения на системе ACL AcuStar с использованием различных лотов реагентов AcuStar aCL IgM. Среднее значение контрольного диапазона, определяемое в каждой лаборатории, может отличаться в зависимости от лота используемого реагента

(*) Информация, необходимая для заведения контрольных карт в ACL AcuStar. Требуется ввести только последние 4 цифры номера лота



Анти-β2 Гликопротеин-I IgG Контроль – 0009802112

Назначение

Набор предназначен для контроля качества анализа Анти-β2 Гликопротеин-I IgG (Кат. № 0009802012), выполняемого на анализаторе ACL™ AcuStar

Краткая информация

Анти-β2-гликопротеин-I (анти-β2GPI) антитела принадлежат к гетерогенной группе антифосфолипидных (аФЛ) антител, которые направлены против анионных фосфолипидов и фосфолипид-белковых комплексов. Постоянно повышенный уровень аФЛ антител связывают с повышенным риском васкулярных тромбозов и акушерских осложнений. Эта зависимость известна как антифосфолипидный синдром, классификация предложена Harris в 1987г.¹ Методы определения анти-β2GPI IgG и IgM антител, анти-кардиолипидовых (aCL) IgG и IgM антител, и волчаночных антикоагулянтов являются методами исследования аФЛ и описаны в обновленных международных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС в 2006 году на встрече в Сиднее (Австралия)^{2,3}.

Низкий и высокий Анти-β2 Гликопротеин-I IgG контроли приготовлены по специальной технологии и содержат разные концентрации человеческих Анти-β2 Гликопротеин-I IgG антител.

Низкий Анти-β2 Гликопротеин-I IgG контроль: контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения уровня анти-β2GPI IgG антител в области нормальных значений, а также возле порогового (cut-off) значения.

Высокий Анти-β2 Гликопротеин-I IgG контроль: контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения уровня анти-β2GPI IgG антител в патологическом диапазоне. Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать оба уровня контроля.

Состав набора

В набор AcuStar анти-β2GPI IgG контроли входит:

[L] Низкий Анти-β2-гликопротеин-I IgG контроль (кат.0009802113): 3 x 1мл штрих-кодированных пробирки с растворенными в физиологическом растворе анти-β2GPI IgG антителами с добавлением фетальной бычьей сыворотки, стабилизаторов и консервантов.

[H] Высокий Анти-β2-гликопротеин-I IgG контроль (кат.0009802114): 3 x 1мл штрих-кодированных пробирки с растворенными в физиологическом растворе анти-β2GPI IgG антителами с добавлением фетальной бычьей сыворотки, стабилизаторов и консервантов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Материал человеческого происхождения для производства данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2 антител. Обращайтесь, как с потенциально инфекционным материалом⁴.
Класс опасности: Отсутствует

Краткие характеристики опасности: Отсутствуют

Меры предосторожности: Отсутствуют

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

Анти-β2GPI IgG контроли находятся в жидком состоянии, и перед использованием их необходимо несколько раз аккуратно перевернуть, чтобы гомогенизировать содержимое. Не допускайте пенообразования.

Примечание: Пузырьки на поверхности могут исказить показания датчиков уровня жидкости.

Стабильность контролей и хранение

Не вскрытые контроли стабильны до истечения срока годности, указанного на пробирках, при температуре 2-8°C. Стабильность после вскрытия: 10 часов постоянно на борту ACL AcuStar (в открытой штрих-кодированной пробирке) или 4 дня на борту по 45 минут 2 раза в день (в открытой штрих-кодированной пробирке) с последующим хранением при 2-8°C в закрытом виде. Контроли могут быть заморожены при -20°C и однократно разморожены. Не допускайте повторного замораживания.

Для оптимальной стабильности вынимайте контроли из прибора и храните закрытыми в оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.

Выполнение анализа

С Анти-β2GPI IgG контролями следует обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой или сывороткой.

Дополнительные реагенты

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

AcuStar Анти-β2 Гликопротеин I IgG Кат.№ 0009802012

Соотнесение контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократного измерения с использованием конкретных лотов реагентов относительно внутреннего стандарта на системе AcuStar. Результаты анализа анти-β2GPI IgG выражаются в Ед/мл (условных IgG единицах). Эти единицы установлены исходя из условия, что результат 20 Ед/мл соответствует верхней границе нормального диапазона, определенного по результатам анализа 262 цитратных плазм из банка крови (99-й перцентиль). Следуя рекомендациям, выработанным на встрече в Сиднее, Международным комитетом по диагностике АФС, единицы измерения анти-β2GPI IgG антител внутреннего стандарта соотнесены с единицами референтных химерных антител HCAI⁵.

Ограничения

Данные продукты разработаны как контрольные материалы для контроля правильности выполнения анти-β2GPI IgG анализа. На контроли распространяются ограничения, присущие аналитической системе. Отклонения результатов указывают на наличие возможных проблем в одном или нескольких компонентах тест-системы.

Характеристики метода

Характеристики метода можно найти во вкладышах к наборам реагентов AcuStar анти-β2GPI IgG.

Диапазоны концентраций низкого и высокого анти-β2GPI IgG контролей были определены путем многократного измерения на системе ACL AcuStar с использованием различных лотов реагентов AcuStar анти-β2GPI IgG. Среднее значение контрольного диапазона, определяемое в каждой лаборатории, может отличаться в зависимости от лота используемого реагента

(*) Информация, необходимая для заведения контрольных карт в ACL AcuStar. Требуется ввести только последние 4 цифры номера лота



Анти-β2 Гликопротеин-I IgM Контроль – 0009802116

Назначение

Набор предназначен для контроля качества анализа Анти- β2 Гликопротеин- I IgM (Кат. № 0009802016), выполняемого на анализаторе ACL™ AcuStar

Краткая информация

Анти-β2-гликопротеин-I (анти-β2GPI) антитела принадлежат к гетерогенной группе антифосфолипидных (аФЛ) антител, которые направлены против анионных фосфолипидов и фосфолипид-белковых комплексов. Постоянно повышенный уровень аФЛ антител связывают с повышенным риском васкулярных тромбозов и акушерских осложнений. Эта зависимость известна как антифосфолипидный синдром, классификация предложена Harris в 1987г.¹ Методы определения анти- β2GPI IgG и IgM антител, анти-кардиолипидовых (aCL) IgG и IgM антител, и волчаночных антикоагулянтов являются методами исследования аФЛ и описаны в обновленных международных критериях классификации АФС, принятых Международным комитетом по диагностике АФС в 2006 году на встрече в Сиднее (Австралия)^{2,3}.

Низкий и высокий Анти-β2 Гликопротеин-I IgM контроли приготовлены по специальной технологии и содержат разные концентрации человеческих Анти-β2 Гликопротеин-I IgM антител. **Низкий Анти-β2 Гликопротеин-I IgM контроль:** контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения уровня анти-β2GPI IgM антител в области нормальных значений, а также возле порогового (cut-off) значения.

Высокий Анти-β2 Гликопротеин-I IgM контроль: контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения уровня анти-β2GPI IgM антител в патологическом диапазоне. Для выполнения полной программы контроля качества рекомендуется использовать оба уровня контроля.

Состав набора

В набор AcuStar анти-β2GPI IgM контроли входит:

[L] Низкий Анти-β2-гликопротеин-I IgM контроль (кат.0009802117): 3 x 1мл штрих-кодированных пробирки с растворенными в физиологическом растворе анти-β2GPI IgM антителами с добавлением фетальной бычьей сыворотки, стабилизаторов и консервантов.

[H] Высокий Анти-β2-гликопротеин-I IgM контроль (кат.0009802118): 3 x 1мл штрих-кодированных пробирки с растворенными в физиологическом растворе анти-β2GPI IgM антителами с добавлением фетальной бычьей сыворотки, стабилизаторов и консервантов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Материал человеческого происхождения для производства данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2 антител. Обращайтесь, как с потенциально инфекционным материалом⁴.

Класс опасности: Отсутствует

Краткие характеристики опасности: Отсутствуют

Меры предосторожности: Отсутствуют

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

Анти-β2GPI IgM контроли находятся в жидком состоянии, и перед использованием их необходимо несколько раз аккуратно перевернуть, чтобы гомогенизировать содержимое. Не допускайте пенообразования.

Примечание: Пузырьки на поверхности могут исказить показания датчиков уровня жидкости.

Стабильность контролей и хранение

Не вскрытые контроли стабильны до истечения срока годности, указанного на пробирках, при температуре 2-8°C. Стабильность после вскрытия: 10 часов постоянно на борту ACL AcuStar (в открытой штрих-кодированной пробирке) или 4 дня на борту по 45 минут 2 раза в день (в открытой штрих-кодированной пробирке) с последующим хранением при 2-8°C в закрытом виде. Контроли могут быть заморожены при -20°C и однократно разморожены. Не допускайте повторного замораживания.

Для оптимальной стабильности вынимайте контроли из прибора и храните закрытыми в оригинальных флаконах при температуре 2-8°C.

Выполнение анализа

С Анти-β2GPI IgM к онтролями следует обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой или сывороткой.

Дополнительные реагенты

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

AcuStar Анти-β2 Гликопротеин I IgM Кат.№ 0009802016

Соотнесение контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократного измерения с использованием конкретных лотов реагентов относительно внутреннего стандарта на системе AcuStar. Результаты анализа анти-β2GPI IgM выражаются в Ед/мл (условных IgM единицах). Эти единицы установлены исходя из условия, что результат 20 Ед/мл соответствует верхней границе нормального диапазона, определенного по результатам анализа 250 цитратных плазм из банка крови (99-й перцентиль). Следуя рекомендациям, выработанным на встрече в Сиднее² Международным комитетом по диагностике АФС, единицы измерения анти-β2GPI IgM антител внутреннего стандарта соотнесены с единицами референтных химерных антител EY2C9⁵.

Ограничения

Данные продукты разработаны как контрольные материалы для контроля правильности выполнения анти-β2GPI IgM анализа. На контроли распространяются ограничения, присущие аналитической системе. Отклонения результатов указывают на наличие возможных проблем в одном или нескольких компонентах тест-системы.

Характеристики метода

Характеристики метода можно найти во вкладышах к наборам реагентов AcuStar анти-β2GPI IgM.

Диапазоны концентраций низкого и высокого анти-β2GPI IgM контролей были определены путем многократного измерения на системе ACL AcuStar с использованием различных лотов реагентов AcuStar анти-β2GPI IgM. Среднее значение контрольного диапазона, определяемое в каждой лаборатории, может отличаться в зависимости от лота используемого реагента

(*) Информация, необходимая для заведения контрольных карт в ACL AcuStar . Требуется ввести только последние 4 цифры номера лота



Д-Димер Контроль – 0009802100

Назначение

Набор предназначен для контроля качества теста на Д-Димер на анализаторе ACL™ AcuStar

Краткая информация

Плазмин, сериновая протеаза, в отсутствие ингибиторов разлагает нерастворимый поперечно-сшитый фибрин до ряда растворимых производных. Их молекулярный вес зависит от степени расщепления. Эти растворимые продукты деградации фибрина содержат неантиген (Д-Димер домен), который отсутствует на исходной молекуле фибриногена, продуктах ее деградации и на растворимом фибрине^{1,2}.

Низкий, высокий и очень высокий Д-Димер контроли приготовлены по специальной технологии и содержат разные концентрации частично очищенных Д-Димеров, полученных из человеческого поперечно сшитого фактором XIIIa фибрина, расщепленного человеческим плазмином.

Низкий Д-Димер контроль: контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения Д-Димера в нормальном диапазоне.

Высокий Д-Димер контроль: контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения Д-Димера в патологическом диапазоне.

Очень высокий Д-Димер контроль: контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости определения Д-Димера в высоком патологическом диапазоне.

Для полноты контроля качества рекомендуется использовать три уровня контрольного материала

Состав набора

В набор **AcuStar Д-Димер контроль** входит:

[L] Низкий Д-Д контроль (кат. 0009802101): 3 флакона х 1мл лиофилизированного раствора частично очищенного Д-Димера, полученного из человеческого фибрина, расщепленного человеческим плазмином, содержащего БСА, буфер, стабилизаторы и консервант.

[L] Низкий Д-Д контроль (кат. 0009802101): 3 пластиковых пробирки со штрих кодом для низкого Д-Димер контроля.

[H] Высокий Д-Д контроль (кат. 0009802102): 3 флакона х 1мл лиофилизированного раствора частично очищенного Д-Димера, полученного из человеческого фибрина, расщепленного человеческим плазмином, содержащего БСА, буфер, стабилизаторы и консервант.

[H] Высокий Д-Д контроль (кат. 0009802102): 3 пластиковых пробирки со штрих кодом для высокого Д-Димер контроля.

[VH] Очень высокий Д-Д контроль (кат. 0009802103): 3 флакона х 1мл лиофилизированного раствора частично очищенного Д-Димера, полученного из человеческого фибрина, расщепленного человеческим плазмином, содержащего БСА, буфер, стабилизаторы и консервант.

[VH] Очень высокий Д-Д контроль (кат. 0009802103): 3 пластиковых пробирки со штрих кодом для очень высокого Д-Димер контроля.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Материал человеческого происхождения для производства данного набора был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2 антител. Обращайтесь, как с потенциально инфекционным материалом³.
Класс опасности: Отсутствует
Краткие характеристики опасности: Отсутствуют
Меры предосторожности: Отсутствуют
Дополнительная информация об опасности:
До 7% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.
Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реагентов

Растворите содержимое каждого флакона в 1мл дистиллированной воды (класса чистоты CLRW по CLSI (ранее NCCLS) или аналогичной⁴. Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь в полном растворении содержимого. Выдержите контроли 30 минут при 15-25°C и перед использованием аккуратно перемешайте, переворачивая. Не встряхивайте.

После растворения перелейте контроль целиком в пустую пластиковую пробирку для ACL AcuStar, помеченную штрих кодом, соответствующим данному контролю.

Примечание: Избегайте пенообразования при растворении и переливании контролей. Пузырьки на поверхности раствора могут исказить показания датчиков уровня жидкости.

Стабильность контролей и хранение

Невыскранные контроли стабильны до истечения срока годности, указанного на пробирках, при температуре 2-8°C.

Стабильность после вскрытия: 25 дней при 2-8°C (в закрытой пластиковой пробирке со штрих кодом), 10 часов постоянно на борту ACL AcuStar (в открытой пластиковой пробирке со штрих кодом) или 4 дня при размещении на борту по 45 минут 2 раза в день (в открытой пластиковой пробирке со штрих кодом) с последующим хранением при 2-8°C в закрытом виде.

Для сохранения стабильности вынимайте контроли из прибора и храните закрытыми, в оригинальных вials при температуре 2-8°C.
Выполнение анализа

После растворения с Д-Димер контролями следует обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой.

Дополнительные реагенты

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:
AcuStar Д-Димер Кат. № 0009802000

Прослеживаемость калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократного измерения с использованием конкретных лотов реагентов относительно внутреннего стандарта на системе AcuStar

Поскольку международный стандарт для Д-Димера в настоящее время не установлен, значение внутреннего стандарта было получено в соответствии с критерием согласования, предложенным В. Нивенхузенем (W. Nieuwenhuizen)⁵⁻⁷ и П. Мейером (P. Meijer)⁸.

Результаты

Результаты определения Д-Димера выражаются в нг/мл. Эти единицы соответствуют нг/мл фибрин эквивалентных единиц (FEU-Fibrin Equivalent Units) Дополнительную информацию можно найти в Руководстве по эксплуатации прибора.

Ограничения

Данные продукты разработаны как контрольные материалы для контроля правильности выполнения анализа Д-Димер. На контроли распространяются ограничения, присущие аналитической системе. Отклонения результатов указывают на наличие возможных проблем в одном или нескольких компонентах тест-системы.

Характеристики метода

Характеристики метода можно найти во вкладышах к наборам реагентов AcuStar Д-Димер.

Диапазоны концентраций низкого, высокого и очень высокого Д-Димер контролей были определены путем многократного измерения на системе ACL AcuStar с использованием конкретных лотов реагентов AcuStar Д-Димер. Среднее значение контрольного диапазона, определяемое в каждой лаборатории, может отличаться в зависимости от лота используемого реагента.

(*) Информация, необходимая для заведения контрольных карт в ACL AcuStar . Требуется ввести только последние 4 цифры номера лота



НГТ Контроль– 0009802122

Назначение

Набор предназначен для контроля качества анализов AcuStar ГИТ (ГИТ-IgG_(PF4-H) Кат. № 0009802028 и ГИТ-Ab_(PF4-H) Кат. № 0009802032), выполняемого на анализаторе ACL AcuStar™

Краткая информация

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ) представляет собой иммунное нарушение, опосредованное образованием иммунных комплексов, которое может стать причиной заболеваемости и смертности пациентов, получающих гепариновую терапию¹. ГИТ считается парадоксальным заболеванием, поскольку антикоагулянтная терапия назначается для предотвращения тромбоза; тем не менее основным клиническим проявлением ГИТ является повышенный риск венозного и/или артериального тромбоза². Подозрение на ГИТ возникает в случае, если у пациента, получающего нефракционированный гепарин (НГ) или низкомолекулярный гепарин (НМГ), количество тромбоцитов снижается более чем на 50 % ниже базового уровня, обычно между 5 и 10 днем после начала антикоагулянтной терапии³. Описаны случаи быстрого начала ГИТ и позднего начала ГИТ². Срочная диагностика ГИТ очень важна, так как в случае подтверждения диагноза назначение гепарина должно быть отменено и заменено на использование альтернативного антикоагулянта.

ГИТ II типа, иммуноаллергический тип, развивается в результате выработки антител, активирующих тромбоциты, большей частью направленных против тромбоцитарного фактора 4, образующего комплекс с гепарином (PF4/H)⁴. Эти антитела являются главной причиной развития тромбоза, как венозного, так и артериального. Согласно существующей рабочей гипотезе образование в предшествующий период PF4/H комплексов (под воздействием, возможно, эндогенных не-гепариновых факторов) приводит к кластеризации PF4/H и стимуляции Т-клеток, которые включают выработку антител В-клетками. Позднее эти В-клетки снова транзитивно активируются под воздействием кластеров PF4/H, образующихся в результате приема гепарина². Развитие патологии связано в основном с присутствием гепарин-зависимых антител IgG изотипа¹. Однако у некоторых пациентов, включая случаи тромботических осложнений, наблюдалось присутствие антител только IgM и/или IgA.

Определение PF4/H антител в сочетании с соответствующим клиническим обследованием доказало свою эффективность при ведении больных с подозрением на ГИТ. В частности отрицательный результат определения PF4/H антител помогает принять решение об исключении диагноза ГИТ и в связи с этим продолжить гепариновую терапию². Слабоположительный ответ может указывать на то, что антитела не участвуют в активации тромбоцитов, тогда как сильно положительный ответ может означать более высокий риск ГИТ. В обоих случаях для подтверждения диагноза рекомендуется выполнить функциональный тест. Для подтверждения или исключения диагноза следует в обязательном порядке провести повторное клиническое обследование, подкрепленное результатами лабораторных анализов².

Низкий и высокий ГИТ контроли приготовлены по специальной технологии и содержат разные концентрации гуманизированных моноклональных анти-PF4-гепарин антител.

Низкий ГИТ контроль (Low): контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости анализа уровня ГИТ-IgG_(PF4-H) и ГИТ-Ab_(PF4-H) ниже значения cut-off.

Высокий ГИТ контроль (High): контроль предназначен для оценки точности и воспроизводимости анализа уровня ГИТ-IgG_(PF4-H) и ГИТ-Ab_(PF4-H) выше значения cut-off.

Для полноты контроля качества рекомендуется использовать оба контроля

Состав набора

В набор AcuStar ГИТ контроли входит:

L Low ГИТ Контроль (Низкий, Кат. № 9802113):

3 x 1мл штрих-кодированных пробирки раствора гуманизированных моноклональных анти-PF4-гепарин антител в Трис буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консервантов

H High ГИТ Контроль (Высокий, Кат. № 9802114):

3 x 1мл штрих-кодированных пробирки раствора гуманизированных моноклональных анти-PF4-гепарин антител в Трис буфере с добавлением БСА, стабилизаторов и консервантов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Материал человеческого происхождения в данном наборе был протестирован утвержденными FDA методами на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ 1/2. Обращайтесь, как с потенциально инфекционным материалом.⁶

Оба контроля содержат менее 0.1% азида натрия, способного образовывать взрывоопасные соединения в металлических трубопроводах. Используйте адекватные процедуры утилизации.

Избегайте попадания на кожу и в глаза (S24/25). Не сливайте в канализацию (S29). Наденьте соответствующую защитную одежду (S36).

Наборы предназначены только для *in vitro* диагностики.

Приготовление реagenтов

ГИТ контроли находятся в жидком состоянии и перед использованием их необходимо несколько раз аккуратно перевернуть, чтобы гомогенизировать содержимое. Избегайте пенообразования. Примечание: Пузырьки на поверхности раствора могут исказить показания датчиков уровня жидкости.

Стабильность контролей и хранение

Не вскрытые контроли при хранении при температуре 2-8°C стабильны до истечения срока годности, указанного на пробирках.

Стабильность после вскрытия: 12 часов постоянно на борту ACL AcuStar (в открытой штрих-кодированной пробирке) или 4 дня по 45 минут 2 раза в день (в открытой штрих-кодированной пробирке) с последующим хранением при 2-8°C в закрытом виде. Контроли могут быть заморожены при -20°C и однократно разморожены. Повторному замораживанию не подлежат.

Для сохранения стабильности вынимайте контроли из прибора и храните закрытыми, в оригинальных флаках при температуре 2-8°C.

Ред версия - 06/2011

Выполнение анализа

С ГИТ контролями следует обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой или сывороткой.

Дополнительные реагенты

Следующие реагенты не поставляются в наборе и должны быть приобретены отдельно:

AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H)

Кат. № 0009802028

AcuStar ГИТ-Ab_(PF4-H)

Кат. № 0009802032

Соотнесение контрольных материалов

Указанные значения были определены путем многократного измерения определенных лотов реагентов AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H) и ГИТ-Ab_(PF4-H) относительно внутрифирменного стандарта в системе ACL AcuStar. Результаты анализа ГИТ выражены в Ед/мл (условных единицах ГИТ).

Ограничения

Данные продукты разработаны, как контрольные материалы для контроля правильности выполнения анализов ГИТ.

На контроли распространяются ограничения, присущие аналитической системе. Отклонения результатов указывают наличие возможных проблем в одном или нескольких компонентах тест-системы.

Характеристики метода

Характеристики метода можно найти во вкладышах к наборам реагентов AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H) и ГИТ-Ab_(PF4-H).

Диапазоны концентраций низкого и высокого ГИТ контролей были определены многократным измерением в системе ACL AcuStar с использованием различных лотов реагентов AcuStar ГИТ-IgG_(PF4-H) и ГИТ-Ab_(PF4-H). Среднее значение контрольного диапазона, определяемое в каждой лаборатории, может отличаться в зависимости от лота используемого реагента

Назначение

Для контроля качества исследований HemosIL AcuStar VWF проводимых на анализаторе ACL™ AcuStar.

Описание и принцип

HemosIL AcuStar Нормальный VWF Контроль предназначен для контроля качества исследований HemosIL AcuStar VWF:Ag*, VWF:RCo* и VWF:CB* на нормальном уровне. HemosIL AcuStar Нормальный VWF Контроль приготовлен с использованием цитратной плазмы человека от здоровых доноров.

HemosIL AcuStar Низкий VWF Контроль предназначен для контроля качества исследований HemosIL AcuStar VWF:Ag, VWF:RCo и VWF:CB на аномальном (низком) уровне. HemosIL AcuStar Низкий VWF Контроль приготовлен с использованием цитратной плазмы человека от здоровых доноров, модифицирован посредством специального процесса для стимуляции аномальной коагуляции образца.

*Не доступен во всех странах

Состав

Набор контролей AcuStar VWF состоит из:

AcuStar Низкий VWF Контроль (кат.№ 0009802121) содержит 6 виал: 3 виалы х 1 мл лиофилизированной разбавленной плазмы человека содержащей буфер и стабилизаторы, без консерванта и 3 пластиковые пробирки со штрих кодом с низким VWF контролем.

AcuStar Нормальный VWF Контроль (кат.№ 0009802120) содержит 6 виал: 3 виалы х 1 мл лиофилизированной разбавленной плазмы человека содержащей буфер и стабилизаторы, консервант и 3 пластиковые пробирки со штрих кодом с нормальным VWF контролем.

Для полной программы контроля качества рекомендуется использовать два контроля.

Примечание: Целевое среднее значение, стандартное отклонение и допустимый диапазон в % для каждого уровня контроля и исследования указаны в таблице значений прилагаемой к набору. Информация содержится в соответствующем штрих коде таблицы значений для каждого исследования и может быть автоматически перенесена в прибор с помощью ручного считывателя штрих кода. Также в анализатор AcuStar информацию можно внести вручную. См. таблицу значений.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Контроли AcuStar VWF содержат материал животного происхождения. Все животные доноры находились в стадах проверенных на отсутствие ГЭКРС. Всех животных проверяли ветеринарные врачи на отсутствие инфекционного и заразного материала. Однако с данным материалом следует работать как с потенциально инфекционным.

Контроли AcuStar VWF содержат материал человеческого происхождения, который был протестирован методами, одобренными FDA, с отрицательными результатами, на HBV поверхностный антиген, HCV и HIV1/2 антитела.

С данным продуктом, как с любыми образцами человеческого происхождения, следует работать соблюдая соответствующие требования лабораторной безопасности для минимизации риска передачи инфекционных болезней.

Контроли AcuStar VWF не классифицированы как опасные.

Класс опасности: Нет

Фразы риска: Нет

Предупредительные фразы: Нет

Дополнительная информация о безопасности:

AcuStar Низкий VWF/Нормальный VFW Контроли:

~100% смеси состоит из компонента неизвестной острой токсичности (оральной, дермальной, ингаляционной) для человеческого здоровья и неизвестной опасности для водной среды.

Продукт предназначен для диагностики ин витро.

Приготовление

Растворите содержимое виалы в 1 мл очищенной воды или аналоге. Снимите крышку и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что продукт полностью растворился. Перед использованием оставьте контроли при 15- 25°C на 30 минут и аккуратно перемешайте. Не встряхивайте. После растворения поместите все содержимое виалы с контролем в соответствующую пластиковую пробирку со штрих кодом для использования на анализаторе ACL AcuStar System.

Примечание: Избегайте образования пены при гомогенизации и переливании разбавленных контролей. Пузырьки на поверхности жидкости могут влиять на датчики жидкости прибора.

Хранение и стабильность реагента

Невскрытые контроли стабильны до истечения срока годности указанного на виале при 2-8°C.

Стабильность после разбавления: Для контроля качества HemosIL AcuStar VWF:Ag и HemosIL AcuStar VWF:RCo – 8 часов непрерывного нахождения на борту анализатора ACL AcuStar System (в открытой пробирке со штрих-кодом) или 5 дней при ежедневном двукратном помещении на борт (в открытой пробирке со штрих-кодом) на 45 минут и последующем извлечении и хранении в закрытом виде при 2-8°C.

Для контроля качества HemosIL AcuStar VWF:CB - 8 часов непрерывного нахождения на борту анализатора ACL AcuStar System (в открытой пробирке со штрих-кодом) или 2 дня при ежедневном двукратном помещении на борт (в открытой пробирке со штрих-кодом) на 30 минут и последующем извлечении и хранении в закрытом виде при 2-8°C.

Для оптимальной стабильности убирайте контроли из системы и храните их при 2-8°C в закрытом виде в пробирках со штрих кодом. Не замораживайте.

Процедура исследования

После разбавления работайте с VWF контролями как со свежей цитратной плазмой. Полное описание процедуры см. в руководстве пользователя ACL AcuStar.

Дополнительные реагенты

Следующие реагенты не входят в состав набора. Приобретаются отдельно.

AcuStar VWF:Ag* кат.№ 0009802020

AcuStar VWF:RCo* кат.№ 0009802024

AcuStar VWF:CB* кат.№ 0009802044

*Не доступны во всех странах

Прослеживаемость контрольных материалов

Полученные значения были определены в ходе множества серий на анализаторе ACL AcuStar System с использованием специфических лотов реагентов имеющих прослеживаемую связь с международным референсным материалом для VWF и фактора VIII.

Результаты

Результаты HemosIL AcuStar VWF представлены в % нормального значения, что эквивалентно МЕ/дл. Для получения дополнительной информации см. руководство пользователя ACL AcuStar. Исследование КК должно проходить согласно местным,

региональным и/или федеральным нормам или установленным требованиям.

Ограничения/мешающие вещества

Данные продукты разработаны как контроли для мониторинга исследований HemosIL AcuStar VWF.

На контроли влияют особенности используемой системы. Отклонения могут указывать на возможные проблемы с одним и более компонентами системы. Соответствующие данные см. во вкладышах к исследованиям.

Ожидаемые значения

Диапазон концентрации низкого и нормального HemosIL AcuStar VWF контролей был установлен в ходе множества серий на анализаторе ACL AcuStar System с использованием специфических лотов реагентов HemosIL AcuStar VWF:Ag, HemosIL AcuStar VWF:RCo и HemosIL AcuStar VWF:CB. Среднее значение диапазона контролей установленное в каждой лаборатории может отличаться в зависимости от используемого лота реагента.

Примечание: Каждая лаборатория должна установить собственный диапазон средних и допустимых значения исходя из используемых реагентов/приборов.

Рабочие характеристики/

Точность:

Внутрисерийная точность была установлена в ходе множества серий с использованием специфических лотов реагентов и контролей. Общие коэффициенты вариации полученные в данном исследовании были < 8.0% для HemosIL AcuStar VWF:RCo, < 8.0% HemosIL AcuStar VWF:Ag и <8% HemosIL AcuStar VWF:CB. Дополнительные рабочие характеристики для HemosIL AcuStar VWF:RCo или HemosIL AcuStar VWF:Ag см. во вкладыше.

Назначение

Для проведения контроля качества исследований HemosIL AcuStar Anti-Cardiolipin (ГемосИЛ АкуСтар Анти-Кардиолипин) IgG/IgM, Анти-β2 Гликопротеин-I IgG IgM, HIT-Ab(PF4-H) и HIT-IgG(PF4-H) с использованием анализатора ACL AcuStar.

Низкий Контроль Multi-Ab (Low Multi-Ab Control): Контроль предназначен для оценки точности и достоверности нормального или cut-off уровней антител.

Высокий Контроль Multi-Ab (High Multi-Ab Control): Контроль предназначен для оценки точности и достоверности аномального уровня антител.

Описание и принцип

Мульти- Ab Контроли (Multi-Ab Controls) изготовлены посредством специального процесса и содержат в различной концентрации анти-фосфолипидные антитела человека (IgG и IgM) и анти-PF4-Гепарин гуманизированное моноклональное антитело.

Антифосфолипидные антитела такие как анти-кардиолипин и анти-β2 гликопротеин I включены в исправленный критерий классификации диагностики АФС.^{1,2} Анти- -PF4 Гепарин антитела связаны с гепарин-индуцированной тромбоцитопенией.³ Для полной программы контроля качества рекомендуется использовать оба контроля.

Состав

Состав набора контроля **HemosIL AcuStar Multi-Ab:**

Низкий Мульти-Ab Контроль (кат.№ 0009800001): 3 x 2 мл пробирки со штрих-кодом с раствором антител человека IgG и IgM aPL и анти-PF4-Гепарин гуманизированное моноклональное антитело в буфере, содержит альбумин бычьей сыворотки, стабилизаторы и консервант.

Высокий Мульти-Ab Контроль (кат.№ 0009800002): 3 x 2 пробирки со штрих-кодом с раствором антител человека IgG и IgM aPL и анти-PF4-Гепарин гуманизированное моноклональное антитело в буфере, содержит альбумин бычьей сыворотки, стабилизаторы и консервант.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Продукт содержит материал животного происхождения. Все животные доноры находились в стадах проверенных на отсутствие ГЭКРС. Всех животных проверяли ветеринарные врачи на отсутствие инфекционного и заразного материала. Однако с данным материалом следует работать как с потенциально инфекционным.⁴

Материалы человеческого происхождения в данном продукте были протестированы методами, одобренными FDA, с отрицательными результатами, на HBV поверхностный антиген, HCV и HIV1/2 антитела.

Работайте как с потенциально инфекционным материалом.

Класс опасности: Нет

Фразы риска: Нет

Предупредительные фразы: Нет

Дополнительная информация о безопасности:

~1.24% смеси состоит из компонента неизвестной острой токсичности (оральной, дермальной, ингаляционной) для человеческого здоровья и неизвестной опасности для водной среды.

Оба контроля содержат азид натрия, который может образовывать взрывчатые азиды в металлических трубах. Соблюдайте соответствующие меры утилизации.

Продукт предназначен для диагностики ин витро.

Приготовление

Контроли Мульти-Ab – жидкость, которую необходимо смешивать аккуратно поворачивая несколько раз для достижения гомогенности. Избегайте образования пены.

Примечание: Пузырьки на поверхности жидкости могут влиять на датчики жидкости прибора.

Хранение и стабильность контролей

Невскрытые контроли стабильны до истечения срока годности указанного на пробирке при 2-8°C.

Стабильность после вскрытия: 10 часов непрерывного нахождения на борту анализатора ACL AcuStar System (в открытой пробирке со штрих-кодом).

Для оптимальной стабильности убирайте контроли из системы и храните их при 2-8°C в закрытом виде в оригинальной пробирке.

При помещении контролей на борт анализатора на 45 минут и возврате закрытых виал для хранения при 2-8°C, контроли стабильны 11 дней при ежедневном использовании (одно исследование в день), а именно на 14 дней или 11 недель использования (одно исследование в неделю) распространяется на 10 недель. Контроли можно замораживать при -20°C и размораживать один раз. Не замораживайте повторно.

Процедура исследования

С контролями Мульти-Ab следует работать так же как и со свежей цитратной плазмой или сывороткой.

Дополнительные реагенты

Следующие реагенты не входят в состав набора. Приобретаются отдельно.

HemosIL AcuStar Anti-Cardiolipin IgG (ГемосИЛ АкуСтар Анти-Кардиолип IgG)	Кат.№ 0009802004
HemosIL AcuStar Anti-Cardiolipin IgM (ГемосИЛ АкуСтар Анти-Кардиолип IgM)	Кат.№ 0009802008
HemosIL AcuStar anti-β2GPI IgG (ГемосИЛ АкуСтар Анти-β2GPI IgG)	Кат.№ 0009802012
HemosIL AcuStar anti-β2GPI IgM (ГемосИЛ АкуСтар Анти-β2GPI IgM)	Кат.№ 0009802016
HemosIL AcuStar HIT-Ab(PF4-H)* (ГемосИЛ АкуСтар HIT-Ab(PF4-H)*)	Кат.№ 0009802032
HemosIL AcuStar HIT-IgG(PF4-H)* (ГемосИЛ АкуСтар HIT-IgG(PF4-H)*)	Кат.№ 0009802028

*Не доступно во всех странах. HIT-Ab и HIT-IgG не разрешены FDA.

Прослеживаемость контрольных материалов

Полученные значения были определены в ходе множества серий на анализаторе ACL AcuStar System с использованием специфических лотов реагентов откалиброванных с помощью калибраторов содержащих концентрации заданные внутренним стандартом. Результаты представлены в ед/мл (произвольные единицы).

Следуя рекомендациям внутреннего комитета по диагностике АФС на собрании проведенном в Сиднее¹, единицы внутреннего стандарта для aPL антител были установлены относительно референсного IgG гибридного антитела HCAL5 и IgM моноклонального антитела EY2C9.⁶

Ограничения

Данные продукты разработаны как контроли для мониторинга aPL (IgG и IgM) и HIT исследований.

На контроли влияют особенности используемой системы. Отклонения могут указывать на возможные проблемы с одним и более компонентами системы.

Рабочие характеристики/ожидаемые значения

Диапазон концентрации низкого и высокого мульти-Ab контролей был установлен в ходе

множества серий на анализаторе ACL AcuStar System с использованием специфических лотов комплементарных реагентов.

Точность:

Внутри серии, между сериями и общая погрешность были установлены в ходе множества серий с использованием одного лота реагента из каждого исследования HemosIL AcuStar. Ниже представлены полученные результаты:

	aCL IgG		aCL IgM		анти- β 2GPI IgG		анти- β 2GPI IgM		HIT Ab		HIT IgG	
Точность	НК	БК	НК	БК	НК	БК	НК	БК	НК	БК	НК	БК
Среднее (ед/мл)	6.7	95.1	6.4	73.9	21.3	371.0	4.5	56.8	0.46	2.44	0.55	2.70
КВ внутри серии (%)	3.6	1.3	1.7	1.4	2.9	2.4	2.1	1.8	3.2	2.9	4.6	2.3
КВ между сериями (%)	0.4	1.1	1.8	1.5	0.0	1.2	1.4	0.6	2.8	2.1	0.3	0.6
Общий КВ (%)	4.6	3.0	2.5	2.1	4.2	2.7	2.9	2.3	4.9	4.6	4.9	4.0

Среднее значение диапазона контроля может незначительно отличаться в каждой лаборатории по причине использования реагентов разных лотов. Среднее значение полученное в лаборатории должно быть в пределах установленного диапазона.

Назначение

Применяется для осуществления контроля качества исследований на Д-Димер, произведенных на анализаторах гемостаза серии ACL.

Краткое описание и принцип

Плазмин – сериновая протеаза, которая, в отсутствие ингибиторов, расщепляет нерастворимый поперечно-сшитый фибрин, образуя множество растворимых производных с меньшей молекулярной массой – продуктов деградации фибрина (ПДФ). Эти ПДФ содержат неантиген – Д-Димер, который отсутствует в природной молекуле фибриногена, продуктах его распада и растворимом фибрине.

Д-Димер контроли 1 и 2 уровней изготавливаются по специальной технологии и содержат частично очищенный Д-Димер в различной концентрации, полученный путем расщепления FXIIIa поперечно-сшитого фибрина человеческим плазмином.

Д-Димер Контроль, низкий: Предназначен для оценки точности и правильности исследований на Д-Димер при низком патологическом значении.

Д-Димер Контроль, высокий: Предназначен для оценки точности и правильности исследований на Д-Димер при патологическом значении.

Для осуществления полной программы контроля качества рекомендуется использование обоих контролей.

Состав

Набор **Д-Димер Контроли** включает:

Д-Димер Контроль, низкий (кат.№ 0020008621): 5 х 1 мл – лиофилизированное вещество частично очищенного от фибрина Д-Димера, бычий сывороточный альбумин, буфер, стабилизаторы и консервант.

Д-Димер Контроль, высокий (кат.№ 0020008620): 5 х 1 мл – лиофилизированное вещество частично очищенного от фибрина Д-Димера, бычий сывороточный альбумин, буфер, стабилизаторы и консервант.

Меры предосторожности

Д-Димер Контроли обоих уровней содержат вещества животного происхождения. Все животные-доноры прошли проверку на губчатую энцефалопатию с отрицательным результатом, а также полную санитарную проверку до взятия материала. Тем не менее, с материалом следует обращаться, как с потенциально контагиозным.

Д-Димер калибратор содержит материал человеческого происхождения, который был протестирован на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ на стадии получения от донора. При работе с этим продуктом, как и с любым препаратом человеческого происхождения,

необходимо придерживаться лабораторных правил по технике безопасности для уменьшения риска переноса инфекционных заболеваний.

Класс опасности: отсутствует

Код риска: отсутствует

Код безопасности: отсутствует

Предназначены только для in vitro диагностики.

Подготовка

Растворите содержимое флакона в 1 мл дистиллированной воды (тип CLRW по международному стандарту CLSI (ранее NCCLS) или аналогичной). Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что содержимое растворилось полностью. Выдержите реагент 30 минут при температуре 15-25°C, перед использованием перемешайте, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Внимание: Пузырьки, образующиеся на поверхности раствора, могут помешать правильной работе сенсоров жидкости.

Стабильность реагентов и хранение

При условии хранения при 2-8°C не вскрытые контроли стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе.

После вскрытия контроли стабильны:

- 1 месяц при 2-8°C в закрытом виде в оригинальных флаконах.
- 8 часов при 15-25 °C на борту систем ACL.
- 2 месяца при -20°C в оригинальных флаконах.

Замороженные контроли необходимо быстро разморозить при температуре 37 °C. Требуют перемешивания перед исследованием. Повторно не замораживать. Для оптимальной стабильности рекомендуется убирать контрольный материал с борта анализатора и хранить при 2-8°C в оригинальном флаконе.

Методика исследования/работа на инструменте

С Д-Димер контролями следует обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой или сывороткой.

Дополнительные реагенты и плазмы

Д-Димер контроли используются вместе со следующими реагентами, которые не входят в стартовый комплект и поставляются отдельно:

- Д-Димер (кат.№ 0020008500)
- Д-Димер Высокочувствительный (кат.№ 0020007700)
- Д-Димер 500 (кат.№ 0020301000)
- Фактор дилуэнт (кат.№ 0009757600)

Метрологическая прослеживаемость для контрольного материала

Указанные значения были получены путем многократного анализа на коагулометрах IL с использованием конкретных лотов реагентов относительно собственного стандарта.

Поскольку международный стандарт для Д-Димеров в настоящее время еще не установлен, собственный стандарт был получен в соответствии с критерием согласования, предложенным В. Нивенхузенем (W. Nieuwenhuizen).

Результаты

Результаты выражаются в нг/мл, что соответствует нг/мл Д-Димер единиц (D-DU) или фибриноген-эквивалентных единиц (FEU) в зависимости от используемого теста на Д-Димер. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора.

Ограничения/интерферирующие вещества

Данные контроли разработаны для осуществления мониторинга за качеством исследований на Д-Димер.

Результаты, полученные при использовании данных контролей, напрямую зависят от технических возможностей системы, на которой производились исследования. Отклонения в значениях могут быть вызваны возможными проблемами одного или нескольких компонентов тест-системы.

Ожидаемые значения

Концентрационный диапазон для низкого и высокого контролей на Д-Димер были определены в многократных повторах на коагулометрах IL с использованием конкретного лота реагента на Д-Димер. Среднее значение диапазона для контролей, определенные в Вашей лаборатории, могут варьировать в зависимости от используемого инструмента и лота реагента.

Принимая во внимание различия в анализаторах и реагентах, каждая лаборатория должна определить свое целевое значение и допустимый внутрилабораторный диапазон (среднее значение и стандартное отклонение) нормальных значений. Тем не менее, обращайте внимание на средние величины в принятом допустимом диапазоне, которые указаны в листке-вкладыше.

Назначение

Применяется для контроля качества исследований на Д-Димер Высокочувствительный 500, произведенных на анализаторах гемостаза ACL TOP.

Краткое описание и принцип

Плазмин – сериновая протеаза, которая, в отсутствие ингибиторов, расщепляет нерастворимый поперечно-сшитый фибрин, образуя множество растворимых производных с меньшей молекулярной массой – продуктов деградации фибрина (ПДФ). Эти ПДФ содержат неоантиген – домен Д-Димер, который отсутствует в молекуле фибриногена, продуктах его распада и растворимом фибрине.

Д-Димер Высокочувствительный 500 контроли высокого и низкого уровней изготавливаются по специальной технологии и содержат частично очищенный Д-Димер в различной концентрации, полученный путем расщепления FXIIIa поперечно-сшитого фибрина человеческим плазмином.

Д-Димер Высокочувствительный 500 Контроль, низкий: Предназначен для оценки точности и правильности исследований на Д-Димер при низких патологических значениях.

Д-Димер Высокочувствительный 500 Контроль, высокий: Предназначен для оценки точности и правильности исследований на Д-Димер при патологических значениях.

Для осуществления полной программы контроля качества рекомендуется использование обоих контролей.

Состав набора

Набор Д-Димер Контроли включает:

Д-Димер Высокочувствительный 500 Контроль, низкий (кат.№ 0020500210): 5 x 1 мл – лиофилизированное вещество частично очищенного от фибрина Д-Димера, бычий сывороточный альбумин, буфер, стабилизаторы и консервант.

Д-Димер Высокочувствительный 500 Контроль, высокий (кат.№ 0020500220): 5 x 1 мл – лиофилизированное вещество частично очищенного от фибрина Д-Димера, бычий сывороточный альбумин, буфер, стабилизаторы и консервант.

Меры предосторожности

Д-Димер калибратор содержит материал человеческого происхождения, который был протестирован FDA на отсутствие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), антител к гепатиту С (анти-HCV) и ВИЧ на стадии получения от донора. При работе с этим продуктом, как и с любым препаратом человеческого происхождения, необходимо придерживаться лабораторных правил по технике безопасности для уменьшения риска переноса инфекционных

заболеваний. Тем не менее, с материалом следует обращаться, как с потенциально контагиозным.

Оба контроля содержат менее чем 0.1% азида натрия, что может привести к образованию взрывоопасных азидов при взаимодействии с металлической поверхностью сантехники. Не выливайте в раковину. Используйте надлежащие процедуры утилизации (S29).

Избегать попадания на кожу и в глаза (S4/25).

В случае попадания в глаза немедленно промыть большим количеством воды и обратиться за медицинской помощью (S26).

Надеть соответствующую защитную одежду (S36).

Предназначены только для *in vitro* диагностики.

Подготовка

Растворите содержимое флакона в 1 мл дистиллированной воды (тип CLRW по международному стандарту CLSI (ранее NCCLS) или аналогичной). Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что содержимое растворилось полностью. Выдержите реагент 30 минут при температуре 15 - 25°C, перед использованием перемешайте, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Внимание: Пузырьки, образующиеся на поверхности раствора, могут помешать правильной работе сенсоров жидкости.

Стабильность реагентов и хранение

При условии хранения при 2-8°C не вскрытые контроли стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе.

После вскрытия контроли стабильны:

- 1 месяц при 2-8°C в закрытом виде в оригинальных флаконах.
- 8 часов при 15 - 25°C на борту анализатора ACL TOP
- 2 месяца при -20°C в оригинальных флаконах.

Замороженные контроли необходимо быстро разморозить при температуре 37 °C. Требуют перемешивания перед исследованием. Повторно не замораживать.

Для оптимизации стабильности реагенты после вскрытия и работы рекомендуется изъять из анализатора и хранить закрытыми в оригинальных флаконах при 2-8 °C.

Методика исследования/работа на инструменте

С Д-Димер контролями следует обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой или сывороткой.

Дополнительные реагенты и плазмы

Д-Димер контроли используются вместе со следующими реагентами, которые не входят в стартовый комплект и поставляются отдельно:

- Д-Димер Высокочувствительный 500 (кат.№ 0020500100)
- Фактор диллоент (кат.№ 0009757600)

Метрологическая прослеживаемость для контрольного материала

Указанные значения были получены путем многократного анализа на коагулометрах IL с использованием конкретных лотов реагентов относительно собственного стандарта.

Поскольку международный стандарт для Д-Димеров в настоящее время еще не установлен, собственный стандарт был получен в соответствии с критерием согласования, предложенным В. Нивенхузен (W. Nieuwenhuizen) и П.Мейджером (P.Meijer).

Результаты

Результаты выражаются в нг/мл, что соответствует нг/мл фибриноген-эквивалентных единиц (FEU). За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора.

Ограничения/интерферирующие вещества

Данные контроли разработаны для осуществления мониторинга за качеством исследований на Д-Димер Высокочувствительный 500.

Результаты, полученные при использовании данных контролей, напрямую зависят от технических возможностей системы, на которой производились исследования. Отклонения в значениях могут быть вызваны возможными проблемами одного или нескольких компонентов тест-системы.

Ожидаемые значения

Концентрационные диапазоны для низкого и высокого контролей на Д-Димер Высокочувствительны 500 были определены в многократных повторах на коагулометре ACL TOP с использованием конкретного лота реагента на Д-Димер Высокочувствительный 500. Среднее значение диапазона для контролей, определенное в Вашей лаборатории, может варьировать в зависимости от используемого инструмента и лота реагента.

Принимая во внимание различия в анализаторах и реагентах, каждая лаборатория должна определить свое целевое значение и допустимый внутрилабораторный диапазон (среднее значение и стандартное отклонение) нормальных значений. Тем не менее, обращайте внимание на средние величины в принятом допустимом диапазоне, которые указаны в листке-вкладыше.

КОНТРОЛЬ Д-ДИМЕРА ЖИДКИЙ HEMOSIL - 0020013000

Назначение

Для осуществления контроля качества исследований на Д-Димер на Коагулометрических Системах IL.

Краткое описание и принцип

Плазмин – сериновая протеаза, которая, в отсутствие ингибиторов, расщепляет нерастворимый поперечно-сшитый фибрин, образуя множество растворимых производных. Их молекулярная масса зависит от степени расщепления. Эти растворимые продукты деградации фибрина содержат неоантиген (Д-димер домен), который отсутствует в природной молекуле фибриногена, продуктах его деградации или в растворимом фибрине.^{1,2}

Д-Димер контроли уровней 1 и 2 изготавливаются по специальной технологии и содержат частично очищенный Д-Димер в различной концентрации, полученный путем расщепления человеческим плазмином поперечносшитого Фактором XIIIa фибрина.

Уровень 1, Контроль Д-Димера:

Контроль предназначен для оценки точности и правильности исследования в низком патологическом диапазоне концентраций Д-Димера.

Уровень 2, Контроль Д-Димер:

Контроль предназначен для оценки точности и правильности исследования при патологических уровнях Д-Димера. Для осуществления полной программы контроля качества рекомендуется использовать оба контроля.

Состав

Набор Контроли Д-Димера, жидкие, включает:

- Контроль Д-Димера, уровень 1 (кат.№ 0020013010): 5 флаконов x 1 мл – жидкий раствор Д-Димера, частично очищенного от человеческого фибрина, расщепленного человеческим плазмином, содержащий бычий сывороточный альбумин, буфер, стабилизаторы и консервант.
- Контроль Д-Димера, уровень 2 (кат.№ 0020013020): 5 флаконов x 1 мл – жидкий раствор Д-Димера, частично очищенного от человеческого фибрина, расщепленного человеческим плазмином, содержащий бычий сывороточный альбумин, буфер, стабилизаторы и консервант.

Меры предосторожности и предупреждения

Уровень 1 и Уровень 2 Контролей Д-Димера содержат материалы животного происхождения, поэтому с ними необходимо обращаться как с потенциально инфицированными. Уровень 1 и Уровень 2 Контролей Д-Димера содержат материал человеческого происхождения, который при тестировании показал отсутствие антител к ВИЧ типов 1 и 2, поверхностного антигена Гепатита В и антител к Гепатиту С (анти-НСV) на стадии получения материала от донора. При работе с этим продуктом, как и с любым препаратом человеческого происхождения, необходимо придерживаться правил по технике безопасности в лаборатории для уменьшения риска передачи инфекционных заболеваний.³ Уровень 1 и Уровень 2 Контролей Д-Димера не классифицированы как опасные продукты.

Класс опасности: отсутствует

Заявления опасности: отсутствуют



Предупредительные заявления: отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

До 2% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Продукт предназначен только для *in vitro* диагностики.

Подготовка

Все контроли жидкие, перед использованием их необходимо перемешать, аккуратно переворачивая флакон несколько раз, для обеспечения однородности. Не встряхивайте. Не допускайте формирования пены.

Примечание

Пузырьки, образующиеся на поверхности раствора, могут помешать правильной работе сенсоров жидкости.

Стабильность реагентов и хранение

Невскрытые контроли стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе, при температуре хранения 2-8°C.

Стабильность после вскрытия

- 1 месяц при температуре 2-8°C в оригинальных флаконах.
- 2 месяца при температуре -20°C в оригинальных флаконах.

Замороженные контрольные материалы следует разморозить при температуре 37°C и аккуратно перемешать перед использованием. Повторное замораживание не допускается.

Семейство анализаторов ACL TOP:

- 24 часа в оригинальных флаконах для тестов Д-Димер и Д-Димер Высокочувствительный при непрерывном нахождении на борту прибора при температуре 15-25°C;
- до 5 дней при условии нахождения на борту прибора по 1 часу дважды в день и хранения плотно закрытых флаконов при температуре 2-8 °C между сессиями.
- *Семейство анализаторов ACL (ACL 100-7000, ACL Elite/Elite Pro/8/9/10000):*
- 4 часа в чашечках для образцов для теста Д-Димер при непрерывном нахождении на борту прибора при температуре 15-25°C;
- до 2 дней при условии нахождения на борту прибора по 1 часу дважды в день и хранения остатков контрольного материала между сессиями в плотно закрытых оригинальных флаконах при температуре 2-8 °C.

Для наилучшей стабильности рекомендуется изымать контроли из измерительной системы и хранить их при температуре 2-8 °C в закрытых оригинальных флаконах.

Методика исследования/работа на приборе

После вскрытия с Контролями Д-Димера следует обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не входят в набор и приобретаются отдельно:

- Д-Димер (кат. № 0020008500)
- Д-Димер Высокочувствительный (кат. № 0020007700)

- Д-Димер 500 (кат. № 0020301000)
- Разбавитель факторов (кат. № 0009757600)

Прослеживаемость калибраторов и контрольных материалов

Указанные значения были получены путем многократного измерения на коагулометрах IL с использованием определенных лотов реагентов относительно собственного внутреннего стандарта. Поскольку международный стандарт для Д-Димера в настоящее время не установлен, собственный стандарт был определен в соответствии с критерием согласования, предложенным W. Nieuwenhuizen⁴ и P. Meijer⁷.

Результаты

Результаты выражаются в нг/мл, что соответствует нг/мл единиц Д-Димера (D-DU) или фибриноген-эквивалентных единиц (FEU) в зависимости от используемого метода определения Д-Димера. Пожалуйста, обратитесь к таблице в конце оригинальной инструкции для получения контрольных значений, специфичных для данного лота набора. За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора.

Ограничения/интерферирующие вещества

Данные контроли разработаны для осуществления контроля качества теста на Д-Димер. Результаты, полученные при использовании данных контролей, напрямую зависят от технических возможностей системы, на которой производились исследования. Отклонения в значениях могут быть вызваны возможными проблемами в одном или нескольких компонентах тест-системы.

Ожидаемые значения

Обратитесь к вкладышу на реагенты для определения Д-Димера, чтобы узнать диапазоны нормальных и патологических значений. Приведенные диапазоны концентраций были определены в многократных повторах на коагулометрах IL с использованием определенных лотов реагентов для определения Д-Димера. Среднее значение контрольного диапазона, определенное в конкретной лаборатории, может варьировать в зависимости от используемого лота реагента. Принимая во внимание различия в анализаторах и реагентах, каждая лаборатория должна самостоятельно определить собственное целевое значение и допустимый диапазон (среднее значение и стандартное отклонение). Тем не менее, среднее значение, полученное на правильно функционирующей измерительной системе, должно попадать в допустимый диапазон значений, указанный на листке-вкладыше.

КОНТРОЛЬ Д-ДИМЕРА ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО 500 (ЖИДКИЙ) HEMOSIL- 0020013100

Назначение

Для осуществления контроля качества исследований на Д-Димер Высокочувствительного 500 на Коагулометрических Системах IL.

Краткое описание и принцип

Плазмин – сериновая протеаза, которая, в отсутствие ингибиторов, расщепляет нерастворимый поперечно-сшитый фибрин, образуя множество растворимых производных. Их молекулярная масса зависит от степени расщепления. Эти растворимые продукты деградации фибрина содержат неоантиген (Д-димер домен), который отсутствует в природной молекуле фибриногена, продуктах его деградации или в растворимом фибрине.^{1,2}

Контроли Д-Димера высокочувствительного 500 уровней 1 и 2 изготавливаются по специальной технологии и содержат частично очищенный Д-Димер в различной концентрации, полученный путем расщепления человеческим плазмином поперечносшитого Фактором XIIIa фибрина.

Уровень 1, Контроль Д-Димера высокочувствительного 500: Контроль предназначен для оценки точности и правильности исследований в низком пограничном диапазоне концентраций Д-Димера.

Уровень 2, Контроль Д-Димера высокочувствительного 500: Контроль предназначен для оценки точности и правильности исследований при патологических уровнях Д-Димера. Для осуществления полной программы контроля качества рекомендуется использовать оба контроля.

Состав

Набор Контроли Д-Димера высокочувствительного 500, жидкие, включает:

- * Контроль Д-Димера высокочувствительного 500, уровень 1 (кат.№ 0020013110): 5 флаконов x 1 мл – жидкий раствор Д-Димера, частично очищенного от человеческого фибрина, расщепленного человеческим плазмином, содержащий бычий сывороточный альбумин, буфер, стабилизаторы и консервант.
- * Контроль Д-Димера высокочувствительного 500, уровень 2 (кат.№ 0020013120): 5 флаконов x 1 мл – жидкий раствор Д-Димера, частично очищенного от человеческого фибрина, расщепленного человеческим плазмином, содержащий бычий сывороточный альбумин, буфер, стабилизаторы и консервант.

Меры предосторожности и предупреждения Уровень 1 и Уровень 2 Контролей Д-Димера высокочувствительного 500 содержат материалы животного происхождения, поэтому с ними необходимо обращаться как с потенциально инфицированными. Уровень 1 и Уровень 2 Контролей Д-Димера высокочувствительного 500 содержат материал человеческого происхождения, который при тестировании показал отсутствие



антител к ВИЧ типов 1 и 2, поверхностного антигена Гепатита В и антител к Гепатиту С (анти-НСV) на стадии получения материала от доноров. При работе с этим продуктом, как и с любым препаратом человеческого происхождения, необходимо придерживаться правил по технике безопасности в лаборатории для уменьшения риска передачи инфекционных заболеваний. 3. Уровень 1 и Уровень 2 Контролей Д-Димера не классифицированы как опасные продукты.

Класс опасности: отсутствует

Заявления опасности: отсутствуют

Предупредительные заявления: отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

До 2% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (пероральной, кожной, ингаляционной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Продукт предназначен только для in vitro диагностики.

Подготовка

Все контроли жидкие, перед использованием их необходимо перемешать, аккуратно переворачивая флакон несколько раз, для обеспечения однородности. Не встряхивайте. Не допускайте формирования пены.

Примечание: Пузырьки, образующиеся на поверхности раствора, могут помешать правильной работе сенсоров жидкости.

Стабильность реагентов и хранение

Невскрытые контроли стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе, при температуре хранения 2-8°C.

Стабильность после вскрытия:

- * 1 месяц при температуре 2-8°C в оригинальных флаконах.
- * 3 месяца при температуре -20°C в оригинальных флаконах или 24 часа в оригинальных при постоянном нахождении на борту анализаторов серии ACL TOP при 15-25°C; До 5 дней при условии нахождения на борту прибора по 1 часу дважды в день и хранения плотно закрытых флаконов при температуре 2-8 °C между сессиями. Замороженные контрольные материалы следует разморозить при температуре 37°C и аккуратно перемешать перед использованием.

Для наилучшей стабильности рекомендуется изымать контроли из измерительной системы и хранить их при температуре 2-8 °C в закрытых оригинальных флаконах.

Методика исследования/работа на приборе После вскрытия с Контролями Д-Димера высокочувствительного 500 следует обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой.

Дополнительные реагенты и контрольные плазмы

Следующие реагенты не входят в набор и приобретаются отдельно:

- * Д-Димер Высокочувствительный 500 (кат. № 0020500100)
- * Разбавитель факторов (кат. № 0009757600)

Прослеживаемость калибраторов и контрольных материалов Указанные значения были получены путем многократного измерения на коагулометрах IL с использованием определенных лотов реагентов относительно собственного внутреннего стандарта. Поскольку международный стандарт для Д-Димера в настоящее время не установлен, собственный стандарт был определен в соответствии с критерием согласования, предложенным W. Nieuwenhuizen⁴⁻⁶ и P. Meijer⁷.

Результаты

Результаты Д-Димера высокочувствительного 500 выражаются в нг/мл, что соответствует нг/мл единиц фибриноген-эквивалентных единиц (FEU). За дополнительной информацией обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора.

Ограничения

Данные контроли разработаны для осуществления контроля качества теста на Д-Димер высокочувствительный 500. Результаты, полученные при использовании данных контролей, напрямую зависят от технических возможностей системы, на которой производились исследования. Отклонения в значениях могут быть вызваны возможными проблемами в одном или нескольких компонентах тест-системы.

Ожидаемые значения

Обратитесь к вкладышу на реагенты для определения Д-Димера высокочувствительного 500, чтобы узнать диапазоны нормальных и патологических значений. Приведенные диапазоны концентраций были определены в многократных повторах на коагулометрах IL с использованием определенных лотов реагентов для определения Д-Димера высокочувствительного 500. Среднее значение контрольного диапазона, определенное в конкретной лаборатории, может варьировать в зависимости от используемого лота реагента. Принимая во внимание различия в анализаторах и реагентах, каждая лаборатория должна самостоятельно определить собственное целевое значение и допустимый диапазон (среднее значение и стандартное отклонение). Тем не менее, среднее значение, полученное на правильно функционирующей измерительной системе, должно попадать в допустимый диапазон значений, указанный на листке-вкладыше.

КОНТРОЛЬ ГОМОЦИСТЕИНА HEMOSIL – 0020007900

Назначение

Применяется для осуществления контроля качества исследований на L-гомоцистеин (кат. № 0020007800), проведенных на коагулометрических системах IL.

Краткое описание и принцип

Уровень 1 и уровень 2 контролей гомотеистеина изготавливаются концентрированного раствора по специальной технологии и содержат L-гомотеистеин в различной концентрации.

Контроль гомотеистеина, уровень 1: Контроль предназначен для оценки точности и правильности исследований на гомотеистеин при пограничных значениях уровня гомотеистеина.

Контроль гомотеистеина, уровень 2: Контроль предназначен для оценки точности и правильности исследований на гомотеистеин при патологических значениях уровня гомотеистеина.

Для осуществления полной программы контроля качества рекомендуется использование обоих контролей.

Состав набора

Набор Контроли гомотеистеина включает:

- 1** **Контроль гомотеистеина, уровень 1** (кат. № 0020007910): 3 x 1 мл – флаконы с лиофилизированным раствором, содержащим L-гомотеистеин и стабилизаторы.
- 2** **Контроль гомотеистеина, уровень 2** (кат. № 0020007920): 3 x 1 мл – флаконы с лиофилизированным раствором, содержащим L-гомотеистеин и стабилизаторы.

Меры предосторожности

Класс опасности: отсутствует

Характеристики опасности: отсутствуют

Меры предосторожности: отсутствуют

Дополнительная информация об опасности:

Контроли гомотеистеина, уровень 1/уровень 2: До 2% смеси состоит из компонентов с неизвестной острой токсичностью (кожной, дыхательной) для здоровья человека и неизвестной опасностью для водной среды обитания.

Продукт предназначен для *in vitro* диагностики.

Подготовка реагентов

Растворите содержимое каждого флакона в 1 мл дистиллированной воды (тип II по международному стандарту CLSI (ранее NCCLS) или аналогичной)¹. Закройте крышкой и аккуратно перемешайте. Убедитесь, что содержимое растворилось полностью. Выдержите реагент 30 минут при температуре 15 - 25°C, перед использованием перемешайте, переворачивая флакон. Не встряхивайте.

Внимание: Пузырьки, образующиеся на поверхности раствора, могут помешать правильной работе сенсоров жидкости.

Стабильность и хранение реагентов

Невскрытые реагенты стабильны до истечения срока годности, указанной на флаконе, при температуре 2-8 °C.

После разведения контроли стабильны:

- 7 дней при 15-25°C в оригинальных флаконах;
- 2 месяца при 2-8°C в оригинальных флаконах;
- 3 дня при 15-25°C на борту ACL TOP в оригинальных флаконах.

Для оптимизации стабильности контроли после вскрытия и работы рекомендуется изъять из анализатора и хранить закрытыми в оригинальных флаконах при 2-8 °C.

Низкая относительная влажность ассоциирована с усиленным испарением реагентов из открытых флаконов, что приводит к снижению стабильности реагентов на борту. Для оптимальной стабильности реагентов необходимо контролировать температуру и влажность в помещении лаборатории.

Методика исследования/работа на инструменте

После приготовления с контролями гомоцистеина необходимо обращаться так же, как со свежей цитратной плазмой.

Дополнительные реагенты

Следующие реагенты не входят в набор и должны быть приобретены отдельно:

Гомоцистеин	0020007800
Моющий раствор	0009831700

Прослеживаемость значений контролей и калибраторов

Указанные значения были определены путем многократного измерения на коагулометрических системах IL с использованием определенных лотов реагентов, а также определенного лота внутреннего стандарта гомоцистеина (Hcy).

Поскольку международный стандарт для гомоцистеина в настоящее время не установлен, внутренний стандарт был изготовлен путем разведения концентрата S-аденозил-L-гомоцистеина (SAH) фосфатным буфером.^{2,3}

Ограничения/интерферирующие вещества

Данные контроли разработаны для осуществления мониторинга за качеством исследований на гомоцистеин.

Результаты, полученные при использовании данных контролей, напрямую зависят от технических возможностей системы, на которой производились исследования. Отклонения в значениях могут быть вызваны возможными проблемами одного или нескольких компонентов тест-системы.

Рабочие характеристики / ожидаемые значения

Информация о рабочих характеристиках приведена в инструкции на набор реагентов для определения гомоцистеина. Указанные значения диапазонов концентраций были определены путем многократного измерения на коагулометрических системах IL с использованием определенных лотов реагентов. Среднее значение контрольного диапазона, полученное в каждой из лабораторий, может отличаться в зависимости от используемого лота реагента.

Методика исследования/работа с инструментом

Методы работы с ГИТ контролями аналогичны методам работы со свежей цитратной плазмой.

Дополнительные реагенты

Вместе с ГИТ контролями используются следующие реагенты, которые не входят в стартовый комплект и поставляются отдельно:

- HemosIL ГИТ-Антитела(PF4-H) (Кат.№0020301200)
- Фактор дилуент (Кат.№0009757600)

Метрологическая прослеживаемость калибровочных плазм и контрольного материала

Значения для ГИТ контролей получены на основании многократных исследований на системах гемостаза серии ACL TOP при использовании реагента HemosIL ГИТ-Антитела(PF4-H) и калибровочных плазм одного конкретного лота.

Ввиду отсутствия международных стандартов, в ходе многочисленных исследований результатов, полученных от здоровых пациентов и пациентов с подозрениями на ГИТ, для определения значений ГИТ были приняты Условные Единицы.

Ограничения

Данные контроли разработаны для осуществления мониторинга за качеством исследований на ГИТ при использовании теста HemosIL ГИТ-Антитела(PF4-H).

Результаты, полученные при использовании данных контролей, напрямую зависят от технических возможностей системы, на которой производились исследования. Отклонения в значениях могут быть вызваны возможными техническими проблемами с анализатором.

Рабочие характеристики

Характеристики метода описаны во вкладыше к реагенту HemosIL ГИТ-Антитела(PF4-H). Диапазон значений для ГИТ контролей обоих уровней получена на основании многократных исследований на системах гемостаза IL при использовании реагента HemosIL ГИТ-Антитела(PF4-H) одного конкретного лота. Значения контрольного диапазона, полученные в каждой из лабораторий, могут варьироваться ввиду использования другого лота реагентов.

Каждая лаборатория должна установить свое контрольное значение и диапазон приемлемых значений (среднее и стандартное отклонения) ввиду использования разных приборов и тестов. Тем не менее, при корректной работе прибора, среднее значение не должно выходить за пределы диапазона приемлемых значений, описанного во вкладыше к реагенту.

Контроль HIT-Ab (PF4-H) HemosIL - 0020013200

Назначение

Применяется для осуществления контроля качества исследований на ГИТ-Антитела (PF4-H), произведенных на системах гемостаза ACL TOP.

Краткое описание и принцип

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ) – нарушение, обусловленное наличием иммунных комплексов и являющееся причиной заболеваемости и смертности пациентов, принимающих гепариновую терапию. ГИТ считается парадоксальным заболеванием, поскольку антикоагулянты назначаются для предотвращения тромбоза. Однако основное клиническое проявление ГИТ – это повышенный риск развития венозного и/или артериального тромбоза. Подозрение на ГИТ появляется в том случае, если у пациентов, принимающих нефракционированный гепарин (НГ) или низкомолекулярные гепарины (НМГ) обнаруживается падение количества тромбоцитов более 50% от базового уровня обычно на 5 – 10 сутки после начала антикоагулянтной терапии. Также имеются сообщения о случаях раннего начала ГИТ и позднего начала ГИТ. Своевременная постановка диагноза очень важна, т.к. в случае подтверждения ГИТ гепариновая терапия должна быть приостановлена и заменена на использование альтернативных антикоагулянтов.

ГИТ тип II, иммуноаллергический тип, вызывается образованием тромбоцит-активирующих антител, направленных в основном против тромбоцитарного фактора 4, который состоит в комплексе с гепарином (PF4/H)4. Эти антитела и являются основной причиной развития тромбоза как венозного так и артериального. Современная рабочая гипотеза предполагает, что раннее представление PF4 комплексов, образование которых, возможно, инициировано эндогенными негепариновыми факторами, приводит к PF4 кластеризации и Т-клеточной стимуляции В-клеток к производству антител. В дальнейшем эти В-клетки снова транзитивно активируются при появлении PF4 кластеров, индуцированных гепариновой терапией. Развитие патологии в основном ассоциируется с гепарин-зависимыми антителами класса IgG. Однако у некоторых пациентов, включая и случаи тромботических осложнений, наблюдалось присутствие антител только IgM и/или IgA класса.

Тестирование антител к PF4/H в сочетании с клинической оценкой состояния пациента доказало высокую эффективность такого подхода при ведении пациентов с подозрением на ГИТ. В частности, отрицательный результат теста на антитела к PF4/H может служить основанием для принятия клинического решения об исключении диагноза ГИТ и продолжении гепариновой терапии. Слабоположительный результат теста на антитела к PF4/H может указывать на то, что антитела не являются тромбоцит-активирующими, тогда как высокоположительные результаты могут указывать на повышенный риск ГИТ. В обоих случаях для подтверждения рекомендуется проводить функциональный тест. До подтверждения или исключения диагноза должна быть проведена повторная клиническая оценка с учетом полученных результатов лабораторных тестов.

Низкий и высокий ГИТ контроли изготавливаются по специальной технологии и содержат моноклональные антитела к PF4/H в различной концентрации.

Низкий ГИТ Контроль: Предназначен для оценки точности и правильности исследований на ГИТ при результате ниже порогового значения.



Высокий ГИТ Контроль: Предназначен для оценки точности и правильности исследований на ГИТ при результате выше порогового значения.

Для осуществления полной программы контроля качества рекомендуется использование обоих контролей.

Состав

Набор ГИТ-Ab (PF4-H) Контроли включает:

Низкий ГИТ-Ab (PF4-H) Контроль (Кат.№0020013210): 3 x 1 мл – флаконы, содержащие фосфатно-солевой буферный раствор с моноклональными антителами к PF4-H, бычий сывороточный альбумин, стабилизаторы и консервант; жидкая форма, готов к использованию.

Высокий ГИТ-Ab (PF4-H) Контроль (Кат.№0020013220): 3 x 1 мл – флаконы, содержащие фосфатно-солевой буферный раствор с моноклональными антителами к PF4-H, бычий сывороточный альбумин, стабилизаторы и консервант; жидкая форма, готов к использованию.

Меры предосторожности

Все реагенты содержат менее 0.1 % азид натрия. При взаимодействии с тяжелыми металлами азид натрия может образовывать взрывоопасные соединения. Требуется специальной утилизации.

Все реагенты классифицированы как не представляющие опасности.

Класс опасности: отсутствует

Код риска: отсутствует

Код безопасности: отсутствует

Предназначен только для in vitro диагностики.

Подготовка

ГИТ контроли перед использованием требуют перемешивания, для чего аккуратно переверните флакон несколько раз, не допуская при этом образования пены. Не трясти!

Внимание: Пузырьки, образующиеся на поверхности раствора, могут помешать правильной работе сенсоров жидкости.

Стабильность реагентов и хранение

При условии хранения при 2-8 °C невскрытые контроли стабильны до истечения срока годности, указанного на флаконе.

После разведения контроли стабильны:

2 месяца при 2-8 °C

24 часа в оригинальных флаконах при 15-25 °C при длительном нахождении на борту анализаторов ACL TOP

При использовании контролей в течение 1 часа на борту на время проведения исследования и последующего немедленного помещения в место хранения при 2-8 °C в закрытом виде, общее время стабильности составляет до 8 часов. Такой подход повышает общее время стабильности до 8 дней.

Для оптимизации расходования и продления срока годности контроли после вскрытия и работы рекомендуется изъять из анализатора и хранить закрытыми в оригинальных флаконах при 2-8 °C.

Методика исследования/работа с инструментом

Методы работы с ГИТ контролями аналогичны методам работы со свежей цитратной плазмой.

Дополнительные реагенты

Вместе с ГИТ контролями используются следующие реагенты, которые не входят в стартовый комплект и поставляются отдельно:

- HemosIL ГИТ-Антитела(PF4-H) (Кат.№0020301200)
- Фактор дилуент (Кат.№0009757600)

Метрологическая прослеживаемость калибровочных плазм и контрольного материала

Значения для ГИТ контролей получены на основании многократных исследований на системах гемостаза серии ACL TOP при использовании реагента HemosIL ГИТ-Антитела(PF4-H) и калибровочных плазм одного конкретного лота.

Ввиду отсутствия международных стандартов, в ходе многочисленных исследований результатов, полученных от здоровых пациентов и пациентов с подозрениями на ГИТ, для определения значений ГИТ были приняты Условные Единицы.

Ограничения

Данные контроли разработаны для осуществления мониторинга за качеством исследований на ГИТ при использовании теста HemosIL ГИТ-Антитела(PF4-H).

Результаты, полученные при использовании данных контролей, напрямую зависят от технических возможностей системы, на которой производились исследования. Отклонения в значениях могут быть вызваны возможными техническими проблемами с анализатором.

Рабочие характеристики

Характеристики метода описаны во вкладыше к реагенту HemosIL ГИТ-Антитела(PF4-H). Диапазон значений для ГИТ контролей обоих уровней получена на основании многократных исследований на системах гемостаза IL при использовании реагента HemosIL ГИТ-Антитела(PF4-H) одного конкретного лота. Значения контрольного диапазона, полученные в каждой из лабораторий, могут варьироваться ввиду использования другого лота реагентов.

Каждая лаборатория должна установить свое контрольное значение и диапазон приемлемых значений (среднее и стандартное отклонения) ввиду использования разных приборов и тестов. Тем не менее, при корректной работе прибора, среднее значение не должно выходить за пределы диапазона приемлемых значений, описанного во вкладыше к реагенту.